

**Histologische, tubulometrische und
elektronenmikroskopische Untersuchungen
am vital fixierten normalen und ischämisch
geschädigten proximalen Tubulus
der Rattenniere**

Annemarie Linke

1965

=

Aus der Elektronenmikroskopischen Abteilung
(Leiter: Prof. Dr. med. H. Lapp)
des Senckenbergischen Pathologischen Institutes
(Direktor: Prof. Dr. med. W. Rotter)
der Universität Frankfurt am Main

Histologische, tubulometrische und elektronen-
mikroskopische Untersuchungen am v i t a l fixierten
normalen und ischämisch geschädigten proximalen
Tubulus der Rattenniere

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n
zur
Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin
der hohen medizinischen Fakultät
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
zu Frankfurt am Main

vorgelegt von
Annemarie Linke
aus Berlin

Frankfurt/Main 1965

Dekan : Professor Dr.H. Frick

Referent : Professor Dr.H. Lapp

Korreferent : Professor Dr.J. Frey

Mündliche Prüfung : 14. April 1965

G l i e d e r u n g =====

I.	<u>Einleitung und Fragestellung</u>	1 - 4
II.	<u>Eigene Untersuchungen</u>	5 - 41
	A. <u>Material und Methoden</u>	5 - 8
	B. <u>Befunde</u>	9 - 16
	1) <u>Das Verhalten der Diurese</u>	9
	2) <u>Die lichtmikroskopischen Befunde</u>	9
	3) <u>Die tubulometrischen Befunde</u>	12
	4) <u>Die elektronenmikroskopischen Befunde</u>	13
	C. <u>Diskussion</u>	17 - 32
	1) <u>Diuresebefunde</u>	17
	2) <u>Histologische Ergebnisse</u>	18
	3) <u>Tubulometrische Ergebnisse</u>	21
	4) <u>Elektronenoptische Befunde</u>	25
	D. <u>Schlußfolgerungen und Versuch einer funktionellen Deutung</u>	33 - 41
III.	<u>Zusammenfassung</u>	42 - 45
IV.	<u>Schrifttum</u>	46 - 50



Digitized by the Internet Archive
in 2026

I. Einleitung und Fragestellung

Die vorübergehende Unterbrechung des Nierenkreislaufes erzeugt bei der Ratte einen wenige Tage anhaltenden Zustand einer tubulären Insuffizienz mit dem klinischen Bild einer kurzfristigen Oligurie, die in eine Polyurie mit Konzentrierungsschwäche übergeht und mit dem führenden anatomischen Merkmal einer Tubulusdilatation bzw. einer Nephrohydropse (E.Opitz, W.Rotter u. W.Hilscher 1953, H. Zimmermann u. Ch.Watz 1957). Wählt man eine nicht über 20 - 30 Min. hinausgehende Ischämiezeit, so sind die Alterationen des Organs geringfügig, Epithelnekrosen treten so gut wie nicht auf, und die Funktionsstörung hat sich nach etwa 14 Tagen wieder zurückgebildet. Die Art der Funktionsstörung und die histologisch so eindrucksvolle Tubulusdilatation, die auch das charakteristische Merkmal der menschlichen Schockniere darstellt (E.Randerath u. A.Bohle 1959, H.U.Zollinger 1962), haben viele Untersucher bewogen, in der akuten postischämischen Nephrose (W.Rotter 1959) der Ratte ein Modell der menschlichen Schockniere zu sehen und an die experimentellen Untersuchungsergebnisse Überlegungen zur Pathogenese der tubulären Insuffizienz des Menschen angeknüpft. In der Tat hat das einfache und gut überschaubare Experiment unsere derzeitige Auffassung vom pathogenetischen Mechanismus der menschlichen Schockniere wesentlich mitgeprägt, wenn auch die experimentelle akute

postischämische Nephrose der Ratte mit der menschlichen Schockniere nicht vollends gleichgesetzt werden darf.

Von morphologischer Seite wurde das Phänomen der Nephrohydropse eingehend erörtert. H. Zimmermann u. Ch. Watz haben erstmalig versucht, die metrischen Beziehungen zwischen Tubulusweite und Epithelfläche während des Ablaufes der postischämischen Erholungsphase herauszuarbeiten. In vielen nachfolgenden tubulometrischen Studien, hauptsächlich der Arbeitskreise um W. Rotter und A. Bohle, konnten diese ersten Meßergebnisse grundsätzlich bestätigt werden (A. Gerson 1964, H. Zimmermann u. Mitarb. 1964, K. F. Ober 1964, A. Bohle u. Mitarb. 1960). Dann konzentrierten sich die Untersuchungen auf die Frage nach Ursache und Wesen der Nephrohydropse. Eine Fülle von Einzelbefunden wurde in eingehenden histologischen, histochemischen und elektronenoptischen Arbeiten zusammengetragen (H. Zimmermann 1957 u. 1960, G. Müller 1964, H. Lapp 1960 u. 1964, H. Cain u. St. Fazekas 1963, W. Thoenes 1962). Zahlreiche Theorien zur Erklärung der Nephrohydropse, die mehr und mehr als die morphologische Kernfrage angesehen wurde, tauchten auf, um bald wieder verworfen zu werden, z.B. die auf der Annahme einer Abflußbehinderung infolge Obstruktion distaler Tubulusabschnitte durch Eiweißzylinder, Epithelzylinder und Abknickung beruhenden Hypothesen, aber auch die Deutungsversuche, in denen niedrige Epithelregenerate, partielle Epithelabschmelzung und Änderungen der interstitiellen Faserspannung als Ursache angenommen wurden. Zuletzt setzte sich die Auffassung durch, daß die weiten Tubuli Ausdruck eines Mißverhältnisses zwischen filtriertem

Tubulusharnvolumen und Tubuluskapazität sind, verursacht durch eine unzureichende Verkleinerung des Tubulusharnvolumens infolge mangelhafter Rückresorption seitens des ischämisch geschädigten Hauptstückepithels (W. Rotter, H. Lapp u. H. Zimmermann 1962).

Alle die bis dahin angestellten Überlegungen und Berechnungen gingen davon aus, daß die proximalen Tubuli der ungeschädigten Niere ein enges Lumen haben. Neuere Untersuchungen mit Hilfe der Lebendbeobachtung (K. Thureau u. P. Deetjen 1961, M. Steinhausen u. J. Iravani 1962, D. Walther 1963), der Fixierung durch Gefriertrocknung (O. E. Hanssen 1960, M. V. Parker u. Mitarb. 1962) sowie der Fixierung durch Beträufelung der Niere in vivo (A. B. Maunsbach u. Mitarb. 1962) erbrachten jedoch den Beweis, daß die proximalen Nierentubuli während des Lebens weit offen sind, etwa so wie im konventionellen histologischen Bild bei tubulärer Insuffizienz. A. Bohle und J. Jahnecke konnten 1964 an Nierenpunktaten demonstrieren, daß dies auch für die menschliche Niere zutrifft. Damit war den früheren Hypothesen eine wesentliche Grundlage entzogen. Sogar die Existenz einer wirklichen Tubulusdilatation erschien zweifelhaft. Unter Berücksichtigung dieses neuen Sachverhaltes hat D. Walther 1963 mit dem Auflichtmikroskop an der lebenden Niere das Verhalten der Hauptstücklichtung nach Abklemmung der Nierenarterie systematisch studiert.

Die Erkenntnis, daß nur an vital fixierten Nieren erhobene metrische und morphologische Befunde exakte Aussagen über Tubulus- und Tubulusepithelveränderungen erlauben, war der Anlaß zu der folgenden Arbeit.

In Anlehnung an das Verfahren von A.B.Maunsbach u.Mitarb. entwickelten wir für die Rattenniere eine Methode der In-vivo-Fixierung, führten die erforderlichen histologischen, tubulometrischen und elektronenmikroskopischen Untersuchungen durch und stellten die folgenden Fragen in den Mittelpunkt unseres Bemühens :

- 1) Wie ist das licht- und elektronenmikroskopische Bild des normalen, in vivo fixierten proximalen Tubulus und wie sind die metrischen Relationen im Vergleich mit denen nach Fixierung in vitro ?
- 2) Wie verhalten sich die in vivo fixierten proximalen Tubuli bei der akuten postischämischen Nephrose ?

II. Eigene Untersuchungen

A. Material und Methoden

Bei weiblichen ausgewachsenen Sprague-Dawley Ratten legten wir in Nembutalnarkose (3,5 g/kg, i.p.) die linke Niere durch einen Flankenschnitt frei und klemmten den gesamten Nierenstiel, d.h.Arterie, Venen und Ureter mit einer mit Gummi überzogenen Gefäßklemme für 20 Min. ab. Um die intrarenalen Druckverhältnisse nicht zu verändern, führten wir keine Dekapsulierung durch. Nach vollständiger Unterbrechung des Blutstromes blaßte die braunrote Nierenoberfläche sofort ab. Während der Ischämie lagen die Nieren in möglichst natürlicher Lage im Bauchraum, der vorübergehend durch Klemmen verschlossen wurde. Der Abnahme der Gefäßklemme folgte eine zunächst fleckförmige, sich aber innerhalb weniger Sekunden auf die ganze Nierenoberfläche ausbreitende Rötung. Anschließend wurden die Bauchwand-schichten getrennt vernäht.

Nach Ablauf der verschiedenen Manifestationszeiten (Mfz.), 0 Min.(andauernde Durchblutungssperre), 3 Min. (zwischen Abnahme der Gefäßklemme und Beginn der Fixierung vergingen durch Richten der Instrumentarien etwa 3 Min.), 1 Std., 6 Std., 24 Std., 48 Std. fixierten wir die ischämisch geschädigten Nieren im vitalen Zustand, in dem wir sie, dem Kreislauf angeschlossen, mit der Fixierlösung beträufelten.

In Voruntersuchungen hatten wir die Voraussetzungen

für eine optimale Fixierung ermittelt: So prüften wir zunächst zwei verschiedene Lösungen, Glutaraldehyd, der sich durch seine große Diffusionsgeschwindigkeit und Affinität zu Proteinstrukturen auszeichnet und die bisher gebräuchliche, sich an die Doppelbindungen der ungesättigten Fettsäuren anlagernde Osmiumsäure, letztere bei unterschiedlichen p_H -Werten. Eine gegenüber dem Blut erhöhte H^+ -Konzentration hatte ein hochgradig vesikuläres endoplasmatisches Retikulum zur Folge. Wir fixierten Nieren mit intakter Kapsel und nach Dekapsulierung, die zweite Versuchsanordnung führte zu einer starken Erweiterung des basalen Labyrinthes. Beträufelten wir die Niere eines Tieres 20 Min., die eines anderen 40 Min., so erhielten wir im zweiten Fall einen nahezu doppelt so breiten, in vivo fixierten Rindenbezirk.

Eine optimale Fixierung, als deren Kriterien uns weit offene Tubuli und fehlende Mitochondrienschwellung dienten, erhielten wir bei einer 40 Min. dauernden Beträufelung mit 6%igem gepuffertem Glutaraldehyd und einer 60 Min. dauernden Beträufelung mit 1%iger gepufferter isotonischer OsO_4 .

Zu jeder Mfz. wurden jeweils eine mit Glutaraldehyd und eine mit OsO_4 beträufelte Niere untersucht. Zwei vital fixierte, nicht ischämisch geschädigte Nieren dienten als Kontrollen. Bevor wir von dem in vivo fixierten, 0,5-1mm breiten, nach Glutaraldehyd gelben, nach OsO_4 schwarzen, scharf gegen das nicht fixierte braunrote Gewebe abgegrenzten Rindenbezirk unter der Präparierlupe Gewebsblöcke entnahmen, wurden die Nieren gewogen. Das Gewebe wurde für die histologischen und metrischen Untersuchungen in

Paraffin eingebettet und mit Hämatoxylin-Eosin, mit der Trichrommethode nach Goldner und der PAS-Methode gefärbt, für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen in Vestopal eingebettet, mit dem Ultratom von LKB geschnitten, mit Bleihydroxyd kontrastiert und in einem Elektronenmikroskop vom Typ Siemens Elmiskop I betrachtet und photographiert.

Um einen Eindruck von den sich nach der Ischämie einstellenden Nierenfunktionsstörungen zu gewinnen, klemmten wir bei fünf Tieren beide Nierenstiele für 20 Min. ab, setzten die operierten Ratten in einen gemeinsamen Stoffwechselkäfig und kontrollierten 15 Tage lang die Ausscheidungsfunktion durch Messung des täglichen Harnvolumens und das Konzentrierungsvermögen durch Bestimmung des spezifischen Gewichtes der einzelnen Harnportionen. Bei der Untersuchung des Harnes auf seinen Gehalt an Eiweiß beschränkten wir uns auf die rein qualitative Kochprobe, da schon die normale Eiweißausscheidung starken individuellen Schwankungen unterliegt. Am 14.Tag prüften wir das maximale Konzentrierungsvermögen im Durstversuch.

Für die Messungen haben wir die histologischen Präparate mit 312,5-facher Vergrößerung photographiert und mit dem Leitz Focomat II C nochmals um das 6-fache vergrößert. An jeweils 10-20 quergetroffenen proximalen Tubuli wurden mit der Meßlupe Lumen und Epithelhöhe bestimmt, die Mittelwerte für Gesamtdurchmesser, Epithelhöhe und Lumen des einzelnen Kanälchens errechnet und graphisch dargestellt. Um das Verhältnis von Lichtung zu Epithelhöhe richtig bewerten zu können (die Wand eines Gummischlauches wird dünner, sobald er gedehnt wird), errechneten wir zu

der in den Manifestationszeiten gemessenen lichten Weite die entsprechende, auf den Normalwert bezogene Epithelhöhe (als Normalwert galten die Maße von zwei in vivo fixierten, nicht ischämisch geschädigten Nieren = Sollwert der doppelten Epithelhöhe) nach der Formel

$$2d = \sqrt{4d_0 \cdot (d_0 + x_0) + x^2} - x$$

Auch diese Werte wurden graphisch veranschaulicht.

Weiterhin planimetrierten wir mit dem Ott-Planimeter an jeweils 10-20 quergetroffenen proximalen Tubuli die Gesamtfläche und das Lumen (das Lumen innerhalb des Bürstensaumes), die Epithelfläche ergab sich durch Subtraktion, und stellten die Mittelwerte in einer Kurve dar.

B. Befunde

1) Das Verhalten der Diurese

Die in den funktionellen Versuchen ermittelten Werte finden sich, bezogen auf das Einzeltier, in Tab.1, graphisch dargestellt in Abb.1.

2) Die lichtmikroskopischen Befunde

a) Kontrollnieren: Im Gegensatz zu gewohnten Bildern nach Fixierung in vitro alle Rindentubuli weit offen, sowohl Hauptstücke als auch Schaltstücke und Verbindungsstücke der Markstrahlen. Lichtungen optisch leer. Bürstensaum der Hauptstücke als schmaler und ganz regelmäßiger, zarter Streifen bei allen Färbungen gut sichtbar. Im dichten Cytoplasma eine Anzahl PAS-positiver Granula. Basale Streifung bei starker Vergrößerung deutlich. In allen Zellen an der Basis des Bürstensaumes eine ganz regelmäßige Reihe kleiner, heller Bläschen. (In postmortal fixierten Hauptstücken sind diese subapicalen Vesikel nicht oder nur vereinzelt sichtbar). Zwischen den Tubuli ein viel größerer Raum als in Bildern nach In-vitro-Fixierung, vollständig eingenommen von den prall gefüllten peritubulären Kapillaren. Kein freier Raum zwischen Epithelbasis und Kapillarwand (Abb.2a u.b).

b) 0 Min. Mfz.: Alle Hauptstücklumina völlig geschlossen, ohne Restlichtung. Bürstensäume gegenüberliegender Zellen gehen ohne Grenze ineinander über. Zellen vergrößert, Cytoplasma aufgehellte. Granulärer Cytoplasmacharakter und PAS-positive Granula treten deutlicher hervor.

Man. Zt.	Vol. (ml)	Spez. G.
normal	4,61	1070
1 Ty	5,1	1032
2 "	6,4	1037
3 "	4,5	1056
4 "	3,86	1056
5 "	5,3	1060
6 "	5,5	1059
7 "	4,5	1064
8 "	4,9	1075
9 "	4,3	1070
10 "	4,5	1076
11 "	4,16	1079
12 "	4,16	1077
13 "	4,14	1078
Dursttag 15 Ty	2,1	1088

Tab. 1

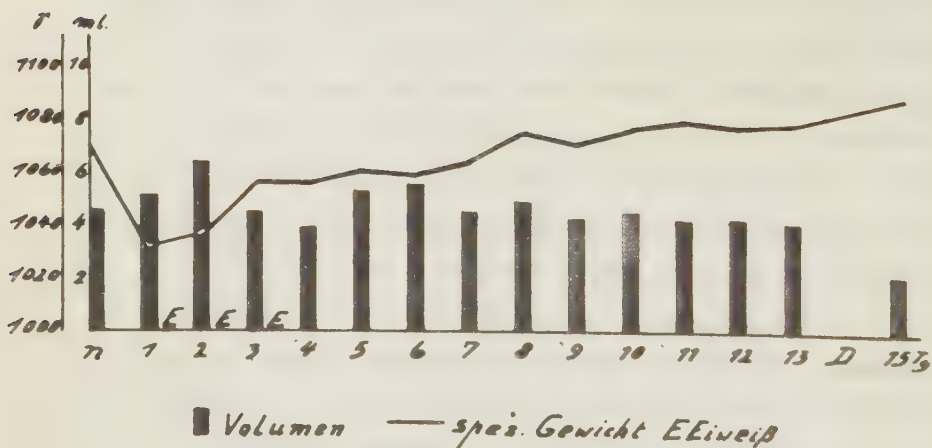


Abb. 1

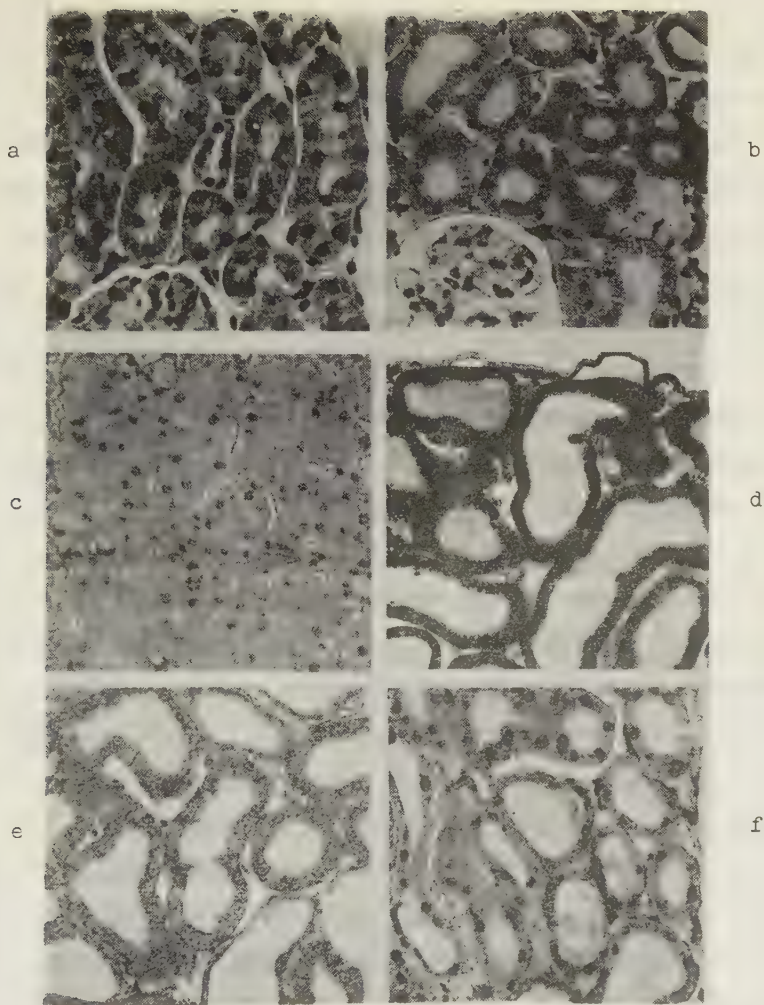


Abb.2: Proximale Tubuli der Rattenniere, alle Bilder bei der gleichen Vergr.1200fach. a) Normale Niere postmortal fixiert, mit supravivalem Tubuluskollaps. b) Normale Niere nach In-vivo-Fixierung, mit offener Tubuluslichtung und blutgefüllten peritubulären Kapillaren. c) Nach Abklemmung des Nierenstieles für 20 Min. Lichtung völlig geschlossen (vgl.a)), Epithel stark geschwollen, Stase der peritubulären Kapillaren. d) 1 Std. nach Wiederdurchblutung. e) 6 Std. nach Wiederdurchblutung. f) 48 Std nach Wiederdurchblutung. b-f in vivo fixiert mit Glutaraldehyd.

Keine regelmäßige Bläschenkette unter dem Bürstensaum, nur einzelne Vesikel. Zellkerne auffallend groß und hell. Intertubulärer Raum verschmälert, Kapillaren eng, mit Erythrocyten in Geldrollenform, fast ohne Blutplasma (Abb.2c). Glomerulumschlingen kollabiert. In postmortal fixierten tieferen Rindenabschnitten zuweilen Zellbestandteile in der Kanälchenlichtung.

c) 3 Min. Mfz.: In der äußeren (zuerst fixierten) Zone Tubuli geschlossen, in tieferen (später fixierten) Zonen bereits einzelne offene neben geschlossenen Lichtungen. Epithelien der geschlossenen Tubuli aufgeheilt, wie bei 0 Min. Mfz., jedoch mit dicht stehenden länglichen, nach dem Zellkern zu spitz auslaufenden, zur Basis hin breiten hellen Vakuolen. Intertubulärer Raum wieder breiter, mit eröffneten Kapillaren. Erythrocyten im Blutplasma verteilt, Geldrollenanordnung nur noch stellenweise sichtbar. Stase in den Glomerulumschlingen fast überall gelöst. - In den postmortal fixierten Tubuli häufig Zelltrümmer.

d) 1 Std. Mfz.: Lumina aller proximalen Tubuli offen, weiter als in Kontrollnieren. Bürstensaum überall als schmaler zarter Streifen gut sichtbar, gegen die Lichtung geradlinig und scharf abgesetzt, vielleicht etwas niedriger als in Kontrollnieren. Keine Zelltrümmer in der Lichtung, jedoch bei Goldnerfärbung zart grün angefärbter eiweißhaltiger Inhalt in vielen Kanälchen und in den jetzt weiten Bowmannschen Kapselräumen. Subapicale Vesikel gegenüber 3 Min.Mfz. vermehrt, Zahl und Größe der basalen Vakuolen zurückgegangen. Intertubuläre Kapillaren weit offen, mit viel Plasma zwischen den Erythrocyten (Abb.2d). -

In den postmortal fixierten Tubuli offene, gegenüber den vital fixierten jedoch nicht erweiterte Lichtungen, die neben Eiweiß auch reichlich Zelltrümmer enthalten. Ihr Bürstensaum stellt sich nicht so regelmäßig dar, weist blasige Auftreibungen auf.

e) 6 Std. Mfz.: Proximale Tubuli weit offen, jedoch enger als bei 1 Std. Mfz. Neben Eiweiß jetzt auch Zelltrümmer in der Lichtung. Regelmäßige Bläschenreihe subapical, wie in Kontrollnieren. Cytoplasma dichter als bei 3 Min. und 1 Std. Mfz. Basale Vakuolen nicht mehr zu erkennen. Interstitielle Kapillaren weit und durchblutet wie in Kontrollnieren (Abb.2e).

f) 24 Std. Mfz.: Alle Hauptstücke offen, etwas unterschiedlich weit. Kaum noch Eiweiß, mehr Zelltrümmer in der Lichtung. Viele Lumina optisch leer. Subapicale Bläschenketten vorhanden. Nur in einzelnen Zellen noch kleine basale Vakuolen.

g) 48 Std. Mfz.: Alle Hauptstücke offen, die Mehrzahl stark erweitert, mit einem flachen Epithel und schmalen Bürstensaum. Andere Kanälchen weniger stark erweitert, mit einem höheren Epithel. Die meisten Lumina sind optisch leer, einige enthalten Zelltrümmer. Cytoplasma sehr dicht, ebenfalls die Zellkerne. Subapicale Bläschenreihen sichtbar. Keine basalen Vakuolen. Gelegentlich größere PAS-positive Cytoplasmagranula. Interstitium und Glomerula wie in Kontrollnieren (Abb.2f). - Im postmortal fixierten Präparat unterschiedliche Weiten der Kanälchen viel stärker ausgeprägt, ein Teil der Kanälchen kollabiert.

3) Die tubulometrischen Befunde

Die aus den linearen Messungen erhaltenen Mittelwerte haben wir in Tab. 2 u. 3 eingetragen und in Abb. 3 graphisch veranschaulicht. Die planimetrischen Ergebnisse finden sich in Tab. 4, 5, 6 und Abb. 4. Lineare wie planimetrische Werte stimmen im wesentlichen überein:

Normaler proximaler Tubulus: Kanälcheninnendurchmesser 17,3 μ ; Lumen : Epithelfläche = 1 : 3,1.

0 Min. Mfz. : Lumen geschlossen, Innendurchmesser=0. Deutlicher Epithelhöhen- und -flächenzuwachs (d.h. Zunahme des Epithels über den errechneten Sollwert hinaus). Geringe Vergrößerung des Außendurchmessers.

3 Min. Mfz.: Kanälchenlichtung weiterhin geschlossen, Gesamtfläche (=Epithelfläche) etwas unter dem Normalwert, Epithelflächenzuwachs gegenüber 0 Min.Mfz. gering vermindert.

1 Std. Mfz. : Merklicher Anstieg des Tubulusinnen- und -außendurchmessers (auf 22,1 bzw. 38,9 μ) bei etwa gleichbleibender Epithelfläche (und Abnahme des Epithelhöhenzuwachses).

6 Std. Mfz. : Verminderung der lichten Weite, Zunahme der Epithel- und Gesamtfläche, die jetzt ein Maximum aufweisen.

24 Std. Mfz. : Weitere Verkleinerung des Innendurchmessers, der nun wieder im Bereich der Norm liegt wie auch der Gesamt- und Epithelfläche.

48 Std. Mfz. : Erneute Zunahme der lichten Weite, fortschreitende Abnahme der Gesamt- und Epithelfläche, letztere wieder normalisiert.

Man.-Ze.	Innendurchmesser			Aussendurchmesser		
	ME	μ	%	ME	μ	%
normal	10,5	17,3	-	20	33	-
0'	0	0	-100	20,9	34,5	+4,5
3'	0	0	-100	19,7	32,5	-1,5
1h	13,4	22,1	+27,6	23,6	38,9	+78
6h	11,8	19,5	+12,4	23,7	39,7	+18,5
24h	10,3	17,0	-1,9	22,7	37,5	+13,5
48h	12,8	21,1	+21,9	21,6	35,6	+8

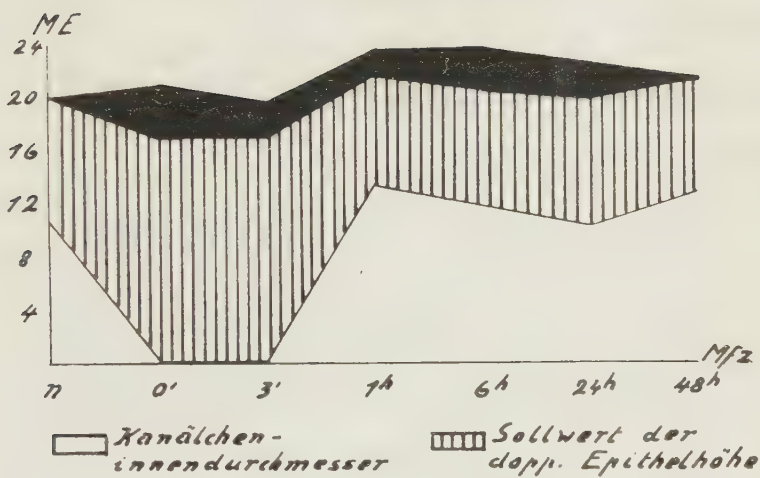
Lineare Messwerte $1ME = 1,65\mu$

Tab. 2.

Man. Zt.	Doppelte Epithelhöhe			
	Sollwert		Zuwachs	
	ME	ME	ME	%
normal	9,5	-	-	-
0'	20,9	17,0	+3,9	+22,9
3'	19,7	17,0	+2,7	+15,9
1 ^h	10,2	8,3	+1,9	+22,9
6 ^h	11,9	8,9	+3,0	+33,7
24 ^h	12,4	9,6	+2,8	+29,2
48 ^h	8,8	8,5	+0,3	+3,5

Lineare Messwerte 1ME = 1,65 μ

Tab. 3



■ Epithelhöhenzuwachs

$$1ME = 1,65 \mu$$

A66. 3

Man.Zt.	L u m e n				
	Z u w a c h s				
	PE	μ^2	PE	μ^2	%
normal	7,9	214,9	-	-	-
0'	0	0	-7,9	-214,9	-100
3'	0	0	-7,9	-214,9	-100
1 ^h	14,1	383,5	+6,2	+168,6	+78,5
6 ^h	11,8	327,0	+3,9	+106,1	+49,4
24 ^h	7,2	195,8	-0,7	-19,1	-8,9
48 ^h	12,0	326,4	+4,1	+111,5	+51,9

Planimetrische Werte 1PE = 27,2 μ^2

Tab. 4

Man.Zt.	Epithelfläche					Lumen Epithel- fläche
	PE	μ^2	PE	Zuwachs μ^2	%	
normal	24,3	661,0	-	-	-	1:3,1
0'	33,1	900,3	+8,8	239,3	+36,2	-
3'	31,7	862,2	+7,4	201,2	+30,5	-
1h	31,3	851,4	+7,0	190,4	+28,8	1:2,2
6h	35,0	952,0	+10,7	291,0	+44,0	1:3,0
24h	31,0	843,2	+6,7	182,2	+27,5	1:4,3
48h	23,8	647,4	-0,5	-73,6	-2,0	1:2,0

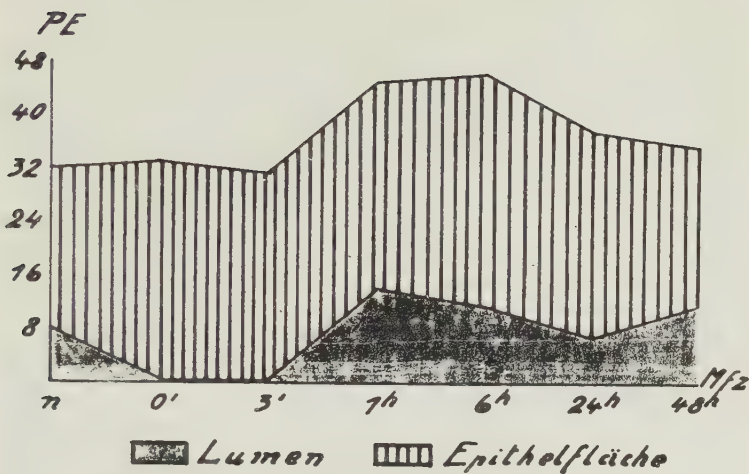
Planimetrische Werte 1PE = 27,2 μ^2

Tab. 5

Man. Zt.	Gesamtfläche				
			Zuwachs		
	PE	μ^2	PE	μ^2	%
normal	32,2	875,8	-	-	-
0'	33,1	900,3	+0,9	+24,5	+2,8
3'	31,7	862,2	-0,5	-73,6	-7,6
7h	45,4	1234,9	+13,2	+359,1	+41,0
6h	46,8	1273,0	+14,6	+397,2	+45,3
24h	38,2	1039,0	+6,0	+163,2	+18,6
48h	35,8	973,8	+3,6	+98,0	+11,2

Planimetrische Werte 1PE = 27,2 μ^2

Tab. 6



der Epithelfläche

$$1PE = 27,2 \mu^2$$

Abb. 4

4) Die elektronenmikroskopischen Befunde

a) Kontrollnieren: Die Mikrovilli des Bürstensaumes begrenzen ein offenes Lumen (Abb.5). Unterhalb des Bürstensaumes längs, schräg und quer angeschnittene Profile der schmalen intervillösen tubulären Zellwandeinfaltungen. Sie reichen weit in den apicalen Zellanteil hinein und enthalten eine elektronendichte Substanz von der gleichen Beschaffenheit wie die am Rande dieser Zone gelegenen kleinen Eiweißtropfen. Vielfach ist der kontinuierliche Übergang von subapicalen Tubuli in kleine Eiweißtropfen zu sehen. In der gleichen Region größere helle, meist optisch leere Vakuolen des glatten endoplasmatischen Reticulums. In tieferen Zellabschnitten liegen zwischen den stäbchenförmigen Mitochondrien größere Eiweißtropfen, nur z.T. von einer Membran umgeben, z.T. mit weiteren Metamorphosen der Membran oder des Inhaltes. Das schmale Grundplasma zwischen den größeren Organellen fällt durch seine in allen, auch in den apicalen Zellabschnitten erkennbare Dichte auf. Der Strukturreichtum ist ungleich größer als in Präparaten nach konventioneller Technik. Neben den kleinen Vesiculae und Tubuli des glatten endoplasmatischen Reticulums, dem relativ gering ausgebildeten granulären endoplasmatischen Reticulum und den freien Ribosomen finden sich noch äußerst feine granuläre und filamentöse Strukturen in großer Reichhaltigkeit, die dem "ungeformten" Grundplasma angehören. Besonders erwähnenswert ist das Vorkommen von einzelnen größeren, von glatter Membran begrenzter Vesikel, die neben optisch leerer Flüssigkeit noch Membrantrümmer und amorphe Eiweißkondensate enthalten (Cytolysosomen).



Abb.5: Teile von proximalen Tubulusepithelien der normalen Rattenniere nach In-vivo-Fixierung. lu-Lumen; mv-Mikrovilli; tu-tubuläre Zellwandeinfaltungen zwischen den Mikrovilli, quer und längs getroffen; sv-subapicale Vesikel; ei-Eiweiß-tropfen, z.T. mit Innenstrukturen; cl-Cytolysosomen; mi-Mitochondrien; la-basales Labyrinth; ic-Interzellularräume; bm-Basalmembran; en-perforiertes Kapillarendothel. Glutaraldehyd - CsO_4 / Vestopal, Vergr. 18 000fach.

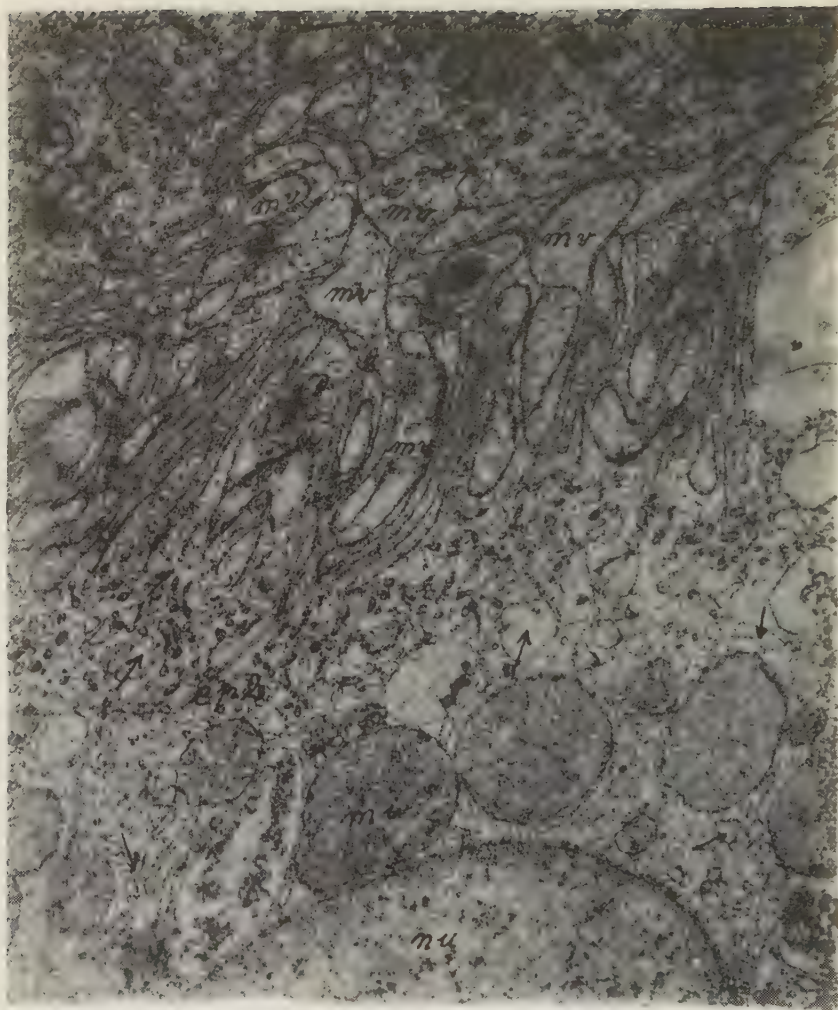


Abb.6: Apicale Zonen von zwei Tubuluszellen bei 20 Min. Isch. und 0 Min. Mfz., in vivo fixiert. Geschwollene Mikrovilli (mv) der Bürstensäume beider Epithelzellen (ep1 u. ep2) berühren sich. Kein Lumen! Ödem des Grundplasmas, Schwellung des glatten und granulären endoplasmatischen Reticulums (↓), Schwellung und Aufhellung des Zellkernes (nu), vergrößerte Mitochondrien (mi) mit Cristaeschwellung. Technik wie Abb.5 Vergr. 28 000fach.

b) 0 Min. Mfz. : Hauptstückzelle in toto stark eingewässert. Die unförmig geschwollenen, aufgehellten Mikrovilli gegenüberliegender Zellen berühren sich (Abb.6). Die Kontinuität der Zellmembran ist überall erhalten. Im ödematös aufgehellten Grundplasma treten die intervillösen tubulären Zellwandeinfaltungen mit ihrem dunklen Inhalt stark hervor. Sowohl die kleinen als auch die großen Vesikel des glatten endoplasmatischen Reticulums und die Innenräume des granulären endoplasmatischen Reticulums sowie die Bläschen des Golgiapparates sind deutlich erweitert, nicht aber an Zahl vermehrt. An diesen Erweiterungen nehmen nicht teil die basalen Zellwandeinfaltungen, d.h. die in den Zellraum hineinragenden Extrazellularräume. Auch das Karyoplasma erscheint aufgehellte. Bemerkenswert ist der Befund an den Mitochondrien. Alle sind geschwollen, jedoch nicht in der aus vielen Publikationen bekannten Art mit stark aufgehellter Matrix, engen Cristaeäumen und Cristaezerfall. Vielmehr finden sich bei leicht aufgehellter Matrix die Membranen der Cristae in ihrer Kontinuität erhalten. Sie sind auseinandergewichen und umschließen spindlige, optisch leere Räume. Außerdem sind die sogenannten dunklen Granula aus den Mitochondrien weitgehend verschwunden. Alle Mitochondrien sind in gleicher Weise verändert. Basalmembranen, verbreitert, unregelmäßig aufgehellte. Zwischen Epithel und Kapillarewand findet sich eiweißhaltige Flüssigkeit (Abb.7).

c) 3 Min. Mfz. : Mitochondrienstruktur völlig wiederhergestellt. Cytoplasma wieder dichter und strukturreich. Im Cytoplasma vermehrt Cytolysosomen mit Membrantümmern, Eiweißkoazervaten und lipiden Substanzen.

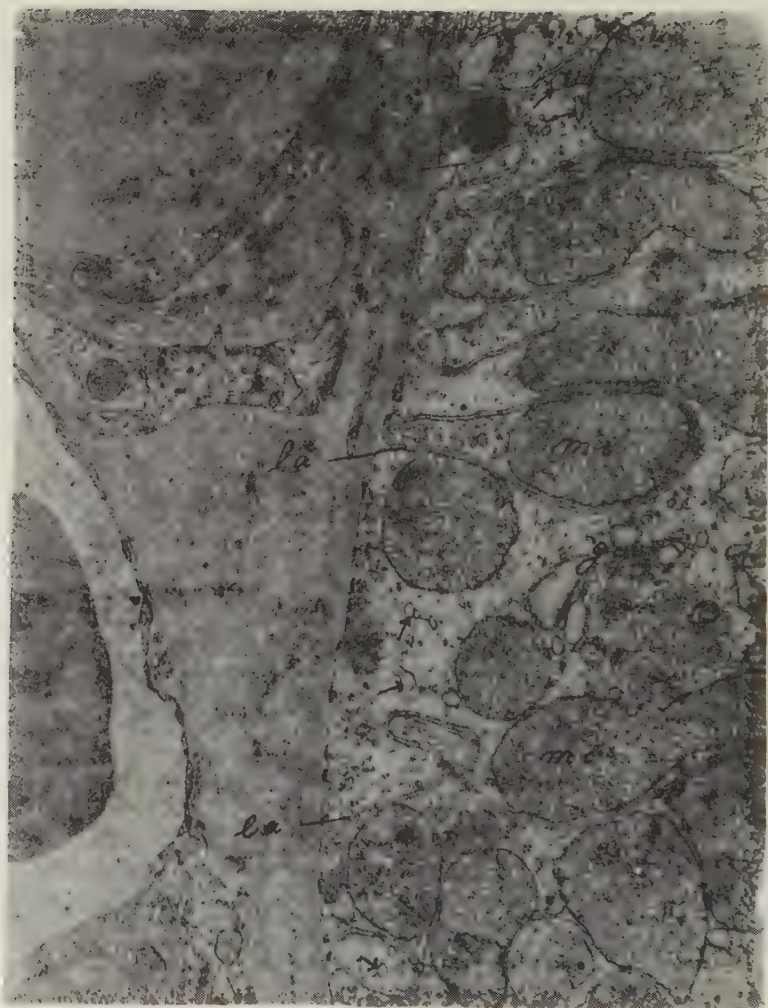


Abb.7: Basaler Anteil einer Tubuluszelle bei 20 Min. Isch.
 1. 0 Min. Mfz., in vivo fixiert. Ödem des Grundplasmas,
 Schwellung des endoplasmatischen Reticulums (↓) und des
 Golgiapparates (go). Mitochondrien (mi) mit Cristae-
 schwellung. Basales Labyrinth (la) eng.
 Technik wie Abb.5. Vergr. 27 000fach.



Abb. 8: Basaler Abschnitt einer proximalen Tubuluszelle bei 20 Min. Isch. u. 3 Min. Mfz., in vivo fixiert. Rechts unten Basalmembran (bm), links Zellkern (nu) mit aufgehelltem Karyoplasma. Grundplasma deutlich dichter als in Abb. 7, Mitochondrien (mi) abgeschwollen. Starke Erweiterung des basalen Labyrinthes (la), vermehrt Cytolysosomen (cl), OsO₄ / Vestopal, Vergr. 15 000fach.

Das auffälligste Merkmal ist jedoch eine starke Erweiterung des basalen Labyrinthes. Seine sackförmig erweiterten Cisternen sind nach der Basalmembran hin offen. Der Inhalt ist fast optisch leer (Abb.8).

d) 1 Std. Mfz. : In der Tubuluslichtung, auch zwischen den Mikrovilli des Bürstensaumes, elektronendichter eiweißhaltiger Primärharn. Er bildet mit den noch bzw. wieder aufgehellten Mikrovilli einen eigentümlichen "negativen Kontrast". Die intervillösen tubulären Zellwandeinfaltungen sind verlängert und ragen weiter in das Cytoplasma hinein. Der Grad der Entwässerung des Grundplasmas variiert von Zelle zu Zelle. In Abb.9 ist das Zellödem noch sichtbar, daneben finden sich quergetroffen die Cisternen des erweiterten basalen Labyrinthes. Besonders auffällig ist jetzt die Neubildung von Vesikeln des glatten endoplasmatischen Reticulums. Kleine Bläschen formieren sich zu langen Ketten, oft in Anlehnung an vorhandene Zellwandeinfaltungen, und fließen stellenweise zu längeren Tubuli zusammen.

e) 6 Std. Mfz. : Die Bilder aus dieser Versuchsphase entsprechen z.T. denen der Mfz. 1 Std., z.T. denen der Mfz. 24 Std. Hervorzuheben sind die zahlreichen Vesikel mit Cytoplasmatrümmern (Cytolysosomen).

f) 24 Std. Mfz. : Bürstensäume und übriges Grundplasma sind noch weiter entwässert, dichter und strukturreicher geworden. In vielen Zellen basale Zellwandeinfaltungen wieder eng, in einigen noch leicht erweitert. Deutliche Aktivität der intervillösen tubulären Zellwandeinfaltungen. Große subapicale, optisch leere Vesikel

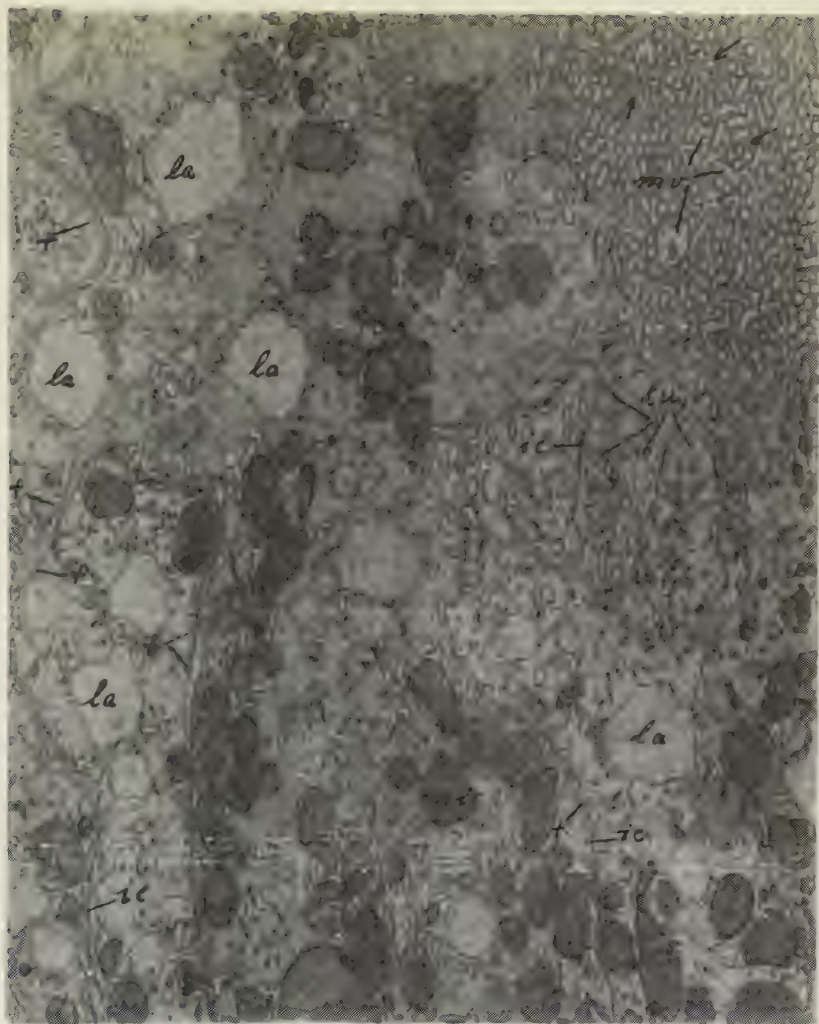


Abb. 9: Flachschnitt durch die apicale Zone einer proximalen Tubuluszelle bei 20 Min. Isch. u. 1 Std. Mfz. „in vivo“ fixiert. Leichtes Öden der Grundsubstanz. Mitochondrien (mi) abgeschwollen. Zwischen den Zellen Mikrovilli (mv) amorphe Eiweißmassen (*), die sich in die verlängerten tubulären Zellwandinfaltungen (tu) fortsetzen. Das erweiterte basale Labyrinth (la) reicht bis fast unter den Bürstensaum. Neugebildete Vesikel des glatten endoplasmatischen Retikulums formieren sich zu Kettchen (*). Interzelluläre Spalten (ic) eng.

OsO₄ / Vestopal, Vergr. 25 000fach.

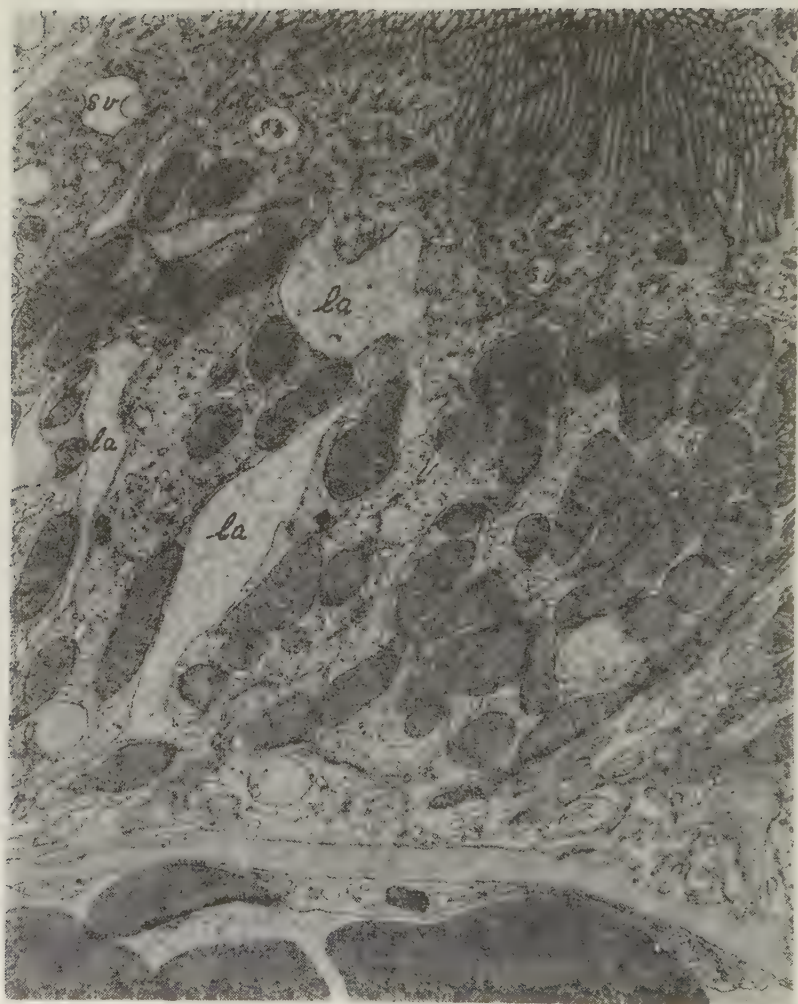


Abb.10: Proximale Tubuluszelle bei 20 Min. Isch. u. 24 Std. Mfz., in vivo fixiert. Grundplasma einschließlich Bürstensaum vollständig entwässert und dicht. Viele tubuläre Zellwandeneinfaltungen (tu) unter dem Bürstensaum. Mehrere subapicale Vesikel (sv). Reiches kleinvesikuläres glattes endoplasmatisches Reticulum. Basales Labyrinth (la) stellenweise noch erweitert, mit eiweißhaltiger Flüssigkeit gefüllt. OsO_4 / Vestopal, Vergr. 15 000fach.

wieder wie in Kontrollnieren vorhanden. Die Hyperplasie des glatten endoplasmatischen Reticulums ist noch nachweisbar. Insgesamt hat die Hauptstückzelle fast wieder das strukturelle Aussehen wie in den Kontrollnieren erreicht (Abb. 10).

C. Diskussion

1) Diuresebefunde

In unseren Diureseuntersuchungen wollten wir lediglich zeigen, daß die temporäre Nierenischämie von 20 Min. für 1-2 Tage eine Harnflut bei gleichzeitigem Abfall des spezifischen Harngewichtes erzeugt. Aus unseren Erfahrungen wissen wir, daß die Auswirkungen des ischämischen Schadens individuellen Schwankungen unterworfen sind und benutzten daher ein Kollektiv von 5 Ratten. Die Ergebnisse aus diesen Untersuchungen stimmen mit denen von K.F.Ober und G.Müller sowie zahlreichen anderen Autoren grundsätzlich überein. Wie aus Tab. 1 und Abb.1 hervorgeht, stieg das Harnvolumen am 1. Tag post op. deutlich an und erreichte am 2.Tag das Maximum von etwa + 50%. Vom 3.Tage an lagen, von geringen Schwankungen abgesehen, die täglichen Harnvolumina in der Nähe des vor der Operation festgestellten Mittelwertes. Das spezifische Gewicht fiel post op. ab und erreichte am 1.Tag den Minimalwert, um vom 2.Tag an bereits wieder anzusteigen. Der vor der Operation ermittelte Normalwert wurde allerdings erst am 8.Versuchstag erreicht. Daß in unserem Diagramm Minimum des spezifischen Harngewichtes und Maximum des Tagesvolumens nicht auf den ersten Tag zusammenfallen liegt an dem Umstand, daß in dem Wert der ersten Tagesmenge nicht gemessene Werte einer kurzen postischämischen Anurie und Oligurie eingegangen sind. Die im Blasenharn der Ratte normalerweise faßbare Proteinurie war in den ersten drei Tagen post operationem deutlich verstärkt.

2) Histologische Ergebnisse

Die für unsere Fragestellung wichtigen Befunde sind in der Tab.7 noch einmal zusammengefaßt. Schon das Bild der normalen Nierenrinde unterscheidet sich grundlegend von den konventionellen histologischen Darstellungen. Alle proximalen Tubuli sind weit offen, ähnlich wie in den Abbildungen vom akuten Nierenversagen der menschlichen Pathologie. Der Bürstensaum des Epithels ist als gleichmäßiger schmaler Innensaum deutlich sichtbar, und die Epithelzellen haben eine mehr kubische Gestalt. Die Relation zwischen Epithelhöhe und Kanälchenweite beträgt etwa 1 : 2. Kleine helle Vesiculae im Epithelcytoplasma dicht unterhalb des Bürstensaumes gehören zum normalen Bild der vital fixierten Hauptstückzelle. Im Vergleich mit den konventionellen, postmortal gewonnenen histologischen Bildern ist der Raum zwischen den Tubuli auffallend weit und wird eingenommen allein von den prall gefüllten peritubulären Kapillaren. Zweifellos verschwindet weitgehend die peritubuläre Blutflüssigkeit ebenso wie auch der Tubulusharn in ganz kurzer Zeit nach Herausnahme des Organes oder nach Sistieren des Nierenkreislaufes. Dieser Tatbestand hat in den früheren Überlegungen und Berechnungen zur funktionellen Morphologie keine Berücksichtigung gefunden.

M.V.Parker u. Mitarb. haben 1962 an narkotisierten Mäusen mit der Gefriertrocknungsmethode nach O.E.Hanssen die Niere eingefroren und an histologischen Bildern die Rindenbestandteile Tubulusepithel, Tubuluslumen und "Interstitium" einschließlich Glomerula zueinander in metrische Beziehung gesetzt. Sie kamen zu dem Ergebnis, daß von der

Mfz.	Lumen ----- Inhalt	Epithel	peritubuläre Kapillaren
normal	offen ----- optisch leer	dicht, fein- granulär, sub- apicale Vesikel	weit, Ery.u.Plasma
0'	geschlossen	Zellödem, einzelne sub- apicale Vesikel	eng, Erythrocyten
3'	geschlossen	Zellödem, basale Vakuolen	eng, Erythrocyten
1 ^h	erweitert ----- Eiweiß	dicht, basale Vakuolen, sub- apicale Vesikel	weit, Ery.u. viel Plasma
6 ^h	erweitert ----- Eiweiß	dicht, basale Vakuolen, sub- apicale Vesikel	weit, Ery.u.Plasma
24 ^h	offen ----- wenig Eiweiß, viel Zell- trümmer	dicht, fein- granulär, sub- apicale Vesikel	weit, Ery.u.Plasma
48 ^h	erweitert ----- Zelltrümmer	dicht, fein- granulär, sub- apicale Vesikel	weit, Ery.u.Plasma

Gesamtmasse der Nierenrinde 40% das Interstitium ausmachen, 45% das Tubulusepithel und 15% die Tubuluslumina. Das bedeutet, daß mehr als die Hälfte des Gesamtvolumens aus durchströmender Flüssigkeit (Blut und Harn) besteht.

In unseren Präparaten finden wir am Ende der Ischämie, bei einer Mfz. von 0 Min., die Hauptstücklichtungen geschlossen. Der Tubulusharn kann, da wir bei abgeklemmtem Nierenstiel (Arterie, Vene, Lymphgefäße und Ureter) fixierten, nur von dem Tubulusepithel aktiv oder passiv aufgenommen worden sein. Ferner erscheinen die Hauptstücke näher aneinander gerückt. Die schmalen intertubulären Räume schließen jetzt enge, kollabierte Kapillaren ein, gefüllt mit Erythrocyten in Geldrollenform. Das im Goldnerpräparat grün gefärbte Blutplasma fehlt fast ganz. Blutverteilungsstörungen können am Übersichtspräparat nicht beobachtet werden, so daß unter den Bedingungen der liegenden Klemme am Hilus nur der Einstrom von Blutplasma in die Tubuluszelle als Erklärung bleibt. Das Tubulusepithel ist jetzt diffus eingewässert und läßt die obligaten Vesikel an der Basis des Bürstensaumes nur noch vereinzelt erkennen. Das Bild zur Mfz. 0 Min. gleicht bis auf das Fehlen einer kleinen Restlichtung dem gewohnten Bild der post mortem fixierten Niere.

Wenn 3 Min. nach Freigabe (Mfz. 3 Min.) der Nierendurchblutung vergangen sind, beginnen sich die Glomerulumschlingen und die peritubulären Kapillaren zu füllen. Die Erythrocytenstase löst sich, und Blutplasma wird in den Kapillaren sichtbar. An der Basis der Hauptstückepithelien haben sich jetzt schmale längliche Vakuolen gebildet, die deutlich die basale Streifung hervortreten lassen. Die

subcapsulären Tubuli sind aber noch geschlossen. Trotz glomerulärer Durchblutung hat die Filtration noch nicht eingesetzt.

Bei einer Manifestationszeit von 1 Std. finden wir weite, mit Erythrocyten und Plasma gefüllte glomeruläre und peritubuläre Kapillaren, so wie im Normalzustand. Bowman-sche Kapselräume und Hauptstücklichtungen sind jetzt weit, letztere deutlich weiter als in den Kontrollnieren. Makroskopisch ist zu dieser Zeit die Niere schon vergrößert, schwerer als die nichtgeschädigte Niere. Der Tubulusinhalt gibt eine homogene, bei Goldnerfärbung grüne Farbreaktion, und zwar in fast allen Kanälchen.

M.V.Parker u. Mitarb. (1962) diskutieren die Möglichkeit, daß infolge der ischämischen Epithelschädigung der Harn zusammen mit abgeschmolzenen Zellbestandteilen eine gelartige Umwandlung erfährt. Ähnliche Überlegungen stellen H.Cain u. St.Fazekas an und glauben, daß partielle Cytolysen Zelleiweiß in den Tubulusharn austreten lassen, dem Harn so eine höhere Viskosität verleihen und verantwortlich sind für erschwerte Rückresorption und Tubulusdilatation. Nach unserer Meinung handelt es sich bei dem im Tubulusharn enthaltenen Eiweiß um filtrierte Plasmaproteine, und zwar in dieser Phase ausschließlich um Bluteiweiß. Sie sind, wie wir später noch zu erörtern haben, weder der entscheidende Faktor für die Rückresorptionsstörung noch verantwortlich für die Tubulusdilatation. Im Epithel, das in seinem Cytoplasma dichter geworden ist, sehen wir jetzt wieder subapicale Vesikel wie in der funktionstüchtigen Epithelzelle und auch recht ausgeprägt die länglichen Vakuolen unterhalb

des Zellkernes.

6 Std. nach Wiederdurchblutung bilden sich die basalen Vakuolen allmählich zurück, die subapicalen Vesikel nehmen an Zahl zu und die lichte Kanälchenweite nähert sich nach dem subjektiven Eindruck wieder der Norm. Nunmehr sind dem eiweißreichen Tubulusharn in größerem Maße von Einzelzellnekrosen stammende Zelltrümmer beigemischt. Eiweiß und Zelltrümmer sind zwar in einigen Nephronen auch noch 24 Std. nach Wiederdurchblutung nachzuweisen, doch liegt das Maximum der Proteinurie in den ersten Stunden. Aus unseren Kontrollversuchen mit Vitro-Fixierung (K.F.Ober, G.Müller 1964) wissen wir, daß nach dem 3. Tag zuerst die Eiweiß- und dann die Zellzylinder aus den Rindenkanälchen verschwinden. In den Präparaten von post mortem fixierten Nieren sind die subapicalen Vesikel nur schwach angedeutet, die basalen Vakuolen nicht zur Darstellung gekommen.

3) Tubulometrische Ergebnisse

Die in den Tab. 2-6 zusammengefaßten arithmetischen Mittelwerte sollen den an histologischen Präparaten gewonnenen subjektiven Eindruck weiter präzisieren. Da die Fehlermöglichkeiten bei zweidimensionalen Messungen geringer sind als bei den linearen, wollen wir, obwohl beide Ergebnisse im Prinzip übereinstimmen, unsere Überlegungen hauptsächlich auf die planimetrischen Werte gründen.

In den Zahlenwerten der Kontrollnieren spiegeln sich die Verhältnisse wieder, wie sie in der lebenden, funktionierenden Niere herrschen. Die lichte Weite des proximalen Tubulus beträgt in unseren Präparaten 17,3 μ .

D.Walther (1963) hat am lebenden Tier mit dem Auflichtmikroskop die mittlere Hauptstückweite bestimmt und kommt zu einem Wert von $20,3\mu$. Anschließende intravitale Fixierung ergab an Paraffinschnitten einen mittleren Wert von $17,5\mu$. Die Differenz erklärt sich durch die mit der Einbettung verbundene Gewebsschrumpfung. Beide Werte, $17,3$ und $17,5\mu$ stimmen praktisch überein und können als die tatsächliche, am Paraffinschnitt bestimmte lichte Weite des normalen proximalen Rattennierentubulus angesehen werden. Frühere Angaben über die lichte Weite der Hauptstücke liegen viel zu niedrig, z.B. 7μ von G.E.Schubert u. Z.Zarday (1962), und können nicht als Bezugswert für Kanälchenerweiterungen gelten. Nach In-vivo-Fixierung sind Radius des Lumens und einfache Epithelhöhe etwa gleich. Die Flächenwerte von Lumen und Epithel verhalten sich wie $1 : 3,1$. Aus den von G.E.Schubert u. Z.Zarday angegebenen Normalwerten leitet sich ein Verhältnis von $1 : 16,2$ ab. Es ist klar, daß alle auf irrationalen Meßwerten beruhenden Schlußfolgerungen zur dynamischen Morphologie des Tubulus nur mit Vorbehalt gültig sein können.

Am Ende der Ischämie (0 Min. Mfz.) sind die Hauptstücklichtungen geschlossen, der Wert für die lichte Weite beträgt null. Die Epithelfläche hat aber mehr zugenommen als der Lumenfläche entspricht. Die doppelte Epithelhöhe weist einen über den errechneten Sollwert hinausgehenden Zuwachs von 23% auf. Auch die Gesamtfläche des Tubulus ist größer geworden, nämlich um 3,4%. Das bedeutet, daß die Epithelschwellung nicht alleine auf der Aufnahme des Tubulusharns beruhen kann, sondern daß während der Abklemmzeit

auch Blutflüssigkeit in die Hauptstückzelle eingeströmt sein muß. Histologisch fanden wir zu dieser Zeit kollabierte peritubuläre Kapillaren mit Erythrocytenstase und einem weitgehenden Schwund des Blutplasmas.

Recht interessant sind die Meßwerte bei der Manifestationszeit von 3 Min., also zu einer Zeit, in der die glomeruläre und peritubuläre Durchblutung, nicht aber die glomeruläre Filtration in Gang gekommen sind. Die Hauptstücklichtung ist nach wie vor eng und leer, das Epithel geschwollen. Doch hat sich der Epithelflächenzuwachs von +36,2% auf +30,5% vermindert, und die Gesamtfläche ist um 4,4% kleiner geworden, sogar 1,6% kleiner als die normale Gesamtfläche. Die Zellentwässerung an der Blutseite des Epithels hat eingesetzt, und Flüssigkeit aus der hydropischen Epithelzelle wurde mit dem peritubulären Kapillarblut abtransportiert. In diesem Stadium finden wir histologisch die basalen Vakuolen und elektronenoptisch eine Erweiterung des basalen Labyrinthes.

1 Std. nach Wiederdurchblutung hat die Filtration eingesetzt, ist die Hauptstücklichtung auf 22 ~~mm~~ erweitert, um 28% weiter als die Lichtung der Kontrollniere. Jetzt besteht eine echte Nephrohydropse. Der Tubulusharn enthält reichlich filtrierte Plasmaproteine. Die Epithelfläche ist noch vergrößert um einen Epithelflächenzuwachs von 28,8%, wenn auch die Höhe mit der normalen Epithelhöhe fast übereinstimmt. Allerdings ist die Epithelschwellung von +30,5% auf +26,8% weiter leicht zurückgegangen. Dennoch besteht ein Gesamtflächenzuwachs von +41,0%. Diese scheinbare Diskrepanz findet ihre Erklärung in der inzwischen eingetre-

tenen Organvergrößerung. Das Verhältnis von Lumenfläche : Epithelfläche ist jetzt 1 : 2,2 gegenüber 1 : 3,1 der normalen Niere. Die Gesamtvergrößerung des Organs beruht überwiegend auf einem größeren Flüssigkeitsgehalt der Niere und weniger auf einer Schwellung der Epithelmasse.

6 Std. und 24 Std. nach Wiederdurchblutung setzt die Harnflut ein. Die lichte Weite geht auf die Ausgangswerte zurück. Eine echte Nephrohydropse besteht nicht mehr. Hätten wir diese Niere postmortal fixiert, so wäre der Tubuluskollaps ausgeblieben, und wir hätten das in früheren Untersuchungen als Nephrohydropse gedeutete Bild mit den weiten Tubuli gefunden. Die Epithelschwellung ist bei 6 Std. Mfz. mit +44% erheblich und besteht bei 24 Std. Mfz. mit +27,5% weiter fort. Die Relation zwischen Lumenfläche und Epithelfläche ist mit 1 : 3,0 und 1 : 4,3 gleich bzw. größer als in der normalen Niere (1 : 3,1) und an der Niere in der allerersten postischämischen Phase (1 : 2,2). Gleichzeitig besteht ein Gesamtflächenzuwachs von +45% und +19%, obwohl die lichte Weite nur wenig oder nicht über dem Normalwert liegt. Klinisch liegt jetzt das polyurische Stadium vor. Die glomeruläre Filtration ist, wie wir annehmen müssen, herabgesetzt, die Rückresorptionsleistung des geschwellenen Tubulusepithels hochgradig eingeschränkt und aus den Sammelrohren fließt ungehindert Harn mit einem niedrigen spezifischen Gewicht.

48 Std. nach Wiederdurchblutung ist nach den linearen und planimetrischen Ergebnissen das Tubulusepithel vollends abgeschwollen. Dennoch ist die Niere vergrößert, umgerechnet auf den Anteil der Rindentubuli (nach M.V.Parker

u. Mitarb.), sogar um +112%. Diese Gewichtsvermehrung aber hat als Ursache eine erneute Erweiterung der Tubuluslichtung, linear um +22% und in der Fläche um +52%. Die Gewichtsvermehrung beruht auf einem größeren Gehalt an Tubulusharn. Das Verhältnis zwischen Lumenfläche und Epithelfläche liegt demnach mit 1 : 2,0 unter dem normalen Verhältnis von 1 : 3,1. Diese 48 Std. nach Wiederdurchblutung erneut aufgetretene echte Nephrohydropse leitet, wie die Funktionskurve zeigt und wie wir aus Parallelversuchen mit In-vitro-Fixierung (K.F.Ober, G.Müller) wissen, die Normalisierung der Ausscheidungsfunktion ein.

4) Elektronenoptische Befunde

Von unseren elektronenmikroskopischen Befunden ist zunächst einmal das mit In-vivo-Fixierung und Glutaraldehyd/Osmiumsäure gewonnene Bild der normalen Hauptstückzelle bemerkenswert. Bei einem Vergleich mit früheren Darstellungen nach In-vitro-Fixierung (J.Rhodin 1958 u. 1963, W.Thoenes 1962) fällt der außerordentliche Strukturreichtum des Cytoplasmas auf. Die zahlreichen Cytoplasmaorganellen finden wir auf engem Raum zusammengedrängt, und selbst das schmale Grundplasma gibt einen starken Kontrast (s. Abb. 5). Neben den freien Ribosomen und den kleinsten Vesikeln des Grundplasmas sieht man noch feine filamentöse und granuläre Elemente, die dem sogenannten amorphen Grundplasma angehören. Die Dichte des Cytoplasmas und der Strukturreichtum sind einerseits das Ergebnis des durch die vitale Fixierung verhinderten postmortalen Zellhydrops, andererseits der auf einem anderen Wirkungsmechanismus beruhenden Glutaraldehyd-

fixierung.

Die Osmiumsäure lagert sich nach der allgemein herrschenden Meinung an den Kohlenstoffdoppelbindungen der ungesättigten Fettsäuren der Lipide an und bringt vorwiegend die Lipide, Neutralfette und Lipoproteide zur Darstellung unter Vernachlässigung der reinen Proteinstrukturen. Der Glutaraldehyd dagegen wird in die vernetzten Makromoleküle von Eiweißcharakter eingebaut, ohne die Eiweißstruktur zu koagulieren. Die Kombination von Glutaraldehyd und Osmiumsäure (mit nachfolgender Kontrastierung) gilt heute als die leistungsfähigste Fixierungsmethode bei der Erforschung der Ultrastruktur.

Weiter sind in unseren Bildern die intervillösen tubulären Zellwandeinfaltungen an der Basis des Bürstensaumes erwähnenswert. Sie enthalten bei unserer Technik eine kontrastreiche Substanz von dem gleichen Aussehen und der gleichen Dichte wie die in der Rattenniere stets vorhandenen kleinen Eiweißtropfen im apicalen Zellabschnitt. Zwischen den gefüllten Tubuli und den kleinen apicalen Eiweißtropfen bestehen kontinuierliche Zusammenhänge. In tieferen Zellabschnitten finden sich größere konglomerierte Eiweißtropfen, die ihre membranöse Umhüllung teilweise oder ganz eingebüßt und weitere Metamorphosen der Grenzschicht, offenbar im Zusammenhang mit der Eiweißverdauung, erfahren haben. Schließlich erwecken besondere, meist ziemlich große Cytosomen unsere Aufmerksamkeit, die in der normalen Tubuluszelle gelegentlich vorkommen, bei den geschädigten Zellen stark vermehrt sind. Ovale oder rundliche Vakuolen, von einer Einfachmembran begrenzt, enthalten neben kontrastarmer

Flüssigkeit wechselnd dichte Eiweißkoazervate, lipoiden Substanzen, Membrantrümmer und nicht selten Myelinfiguren. Es handelt sich dabei um sogenannte Cytolysosomen, in denen zelleigene Strukturzerfallsprodukte mit Hilfe von lytischen Fermenten zerkleinert werden.

Das Maximum der Zellschädigung erwarten wir am Ende der Abklemmzeit, bei der Manifestationszeit 0 Min. In dieser Phase zeigt die Zelle in Übereinstimmung mit den histologischen und tubulometrischen Befunden eine starke ödematöse Schwellung. Am Bürstensaum sind die Mikrovilli kolbig und spindlig aufgetrieben, in ihrer Matrix aufgehellte und manchmal grotesk deformiert (s. Abb. 6). Destruktionen aber haben wir nicht gesehen. Bei der postmortalen Stückfixierung wurden "Epithelblasen", "abgeschmolzene" Teile des Bürstensaumes und andere Zellfragmente in der Lichtung ischämisch geschädigter Hauptstücke beschrieben (W. Thoenes 1962). Auch in unseren postmortal fixierten histologischen Kontrollen fanden wir Zelltrümmer in der Lichtung, nicht aber in den vital fixierten Präparaten. Die vielfach behauptete partielle Cytolyse, auch Potocytose genannt, nimmt in der Diskussion um die Pathogenese der postischämischen und toxisch bedingten tubulären Funktionsstörung einen breiten Raum ein (H. U. Zollinger 1952, A. Bohle u. Mitarb. 1960, H. Cain u. St. Fazekas 1963). Wir bezweifeln, daß der Verlust der Kontinuität der Zellmembran mit der weiteren Existenz der Zelle vereinbar ist. Auf Grund unserer Beobachtungen liegt der Schluß nahe, daß früheste autolytische Veränderungen, die bei Stückfixierung in vitro und Post-mortem-Fixierung unvermeidlich sind, zum Bersten der kolbig aufgetriebenen

und unter Druck stehenden Mikrovilli Anlaß geben und Membrantrümmer sowie ausfließendes Cytoplasma in die Lichtung austreten lassen. Die Potocytose ist u.E. ebenso ein Artefakt wie der viele Jahre verkannte supravitale Tubuluskollaps! Die in späteren Stadien auch von uns gefundenen Zelltrümmer in der Tubuluslichtung resultieren aus Totalnekrosen von Einzelzellen.

Auch in den mittleren und tiefen Zellabschnitten ist das allgemeine Zellödem ausgeprägt (s.Abb.7). Die Zellorganellen scheinen auseinandergerückt, und im verbreiterten aufgehellten Grundplasma treten die Ribosomen besonders deutlich hervor. Die diffuse Einwässerung geht einher mit einer Vergrößerung, nicht mit einer Vermehrung der existenten Räume des glatten und granulären endoplasmatischen Reticulums. Zu dieser Zeit ist das vermehrte Auftreten von Cytolysosomen in ihren Frühstadien zu beobachten. Sie sehen aus wie besonders große Vesikel des glatten endoplasmatischen Reticulums und enthalten erste schlierige und körnige Eiweißmassen neben viel Flüssigkeit. Die großen, optisch leeren Vesikel an der Basis des Bürstensaumes normaler Hauptstückzellen, lichtmikroskopisch als "subapicale Vesikel" angesprochen, die teils mit resorptiven, teils mit sekretorischen Partiaelfunktionen in Zusammenhang gebracht werden (J.Rhodin 1958), fehlen zur Manifestationszeit 0 Min.

Ein wichtiger Befund der Schädigungsphase betrifft die Mitochondrien. Sie sind vergrößert, mehr plumpoval oder abgerundet, deutlich geschwollen. Doch unterscheidet sich die Struktur der geschwollenen Mitochondrien wesentlich von den früheren Darstellungen reversibel hypoxidotisch

geschädigter Mitochondrien (E.Fölbert u. D.Guerritore 1957, H.Lapp 1960, W.Rotter, H.Lapp u. H.Zimmermann 1962).

Bei der vitalen Fixierung der geschädigten Mitochondrien ist die Matrix nur mäßig stark wolkig aufgehellt. Die Doppel-lamellen der Cristae bleiben in ihrer Kontinuität erhalten, zeigen eine sehr ausgeprägte diffuse und spindlige Erweiterung ihrer Binnenräume, die elektronenoptisch leer erscheinen (s.Abb.6 u. 7). Unsere Vestopalblöcke enthielten zum Teil nebeneinander vital fixierte und postmortal fixierte Rindenanteile. Dabei fanden wir in den letzteren die Mitochondrienschwellung früherer Darstellungen mit dem starken Mitochondrienhydrops, den engen Cristae-Binnenräumen, dem Cristaezerfall und den stummelförmigen Cristae-Fragmenten am inneren Blatt der äußeren Doppelmembranen. Diese vergleichenden Beobachtungen haben uns in der Auffassung bestärkt, daß die hypoxische Mitochondrienschwellung der früheren Darstellungen ein postmortaler Artefakt ist und die beobachtete Cristaeswellung das Substrat der hypoxischen Schädigung der Nierenmitochondrien darstellt. In unseren geschädigten Mitochondrien war überdies die Zahl der in ihrer Bedeutung noch unklaren dunklen Granula stark reduziert.

3 Min. und 1 Std. nach Wiederdurchblutung haben die Reparationsvorgänge an den reversibel geschädigten Hauptstückepithelien bereits eingesetzt. Die offene Tubuluslichtung enthält einen eiweißreichen Primärharn, ohne jegliche Beimischung von Zellbestandteilen. Bei vielen Zellen sind die in den eiweißhaltigen Harn eintauchenden Mikrovilli noch aufgetrieben und heller als der elektronendichte Tubulusinhalt, der sich über die intervillösen Räume in die

jetzt vermehrten und verlängerten tubulären Zellwandeinfaltungen fortsetzt. Kleinere und größere Eiweißtropfen, von Einfachmembranen umhüllt, liegen in großer Zahl zwischen Kern und Bürstensaum im Grundplasma. Dieser Befund untermauert die Annahme, daß die subapicalen Tubuli der Rückresorption der jetzt vermehrt filtrierte Plasmaproteine dienen (H.Lapp 1964). Die Aufnahme und die Verarbeitung unphysiologischer Eiweißkörper wie Fremdalbumine, Haemoglobin usw. (F.Miller 1960) unterscheidet sich von dem physiologischen Modus der Eiweißklärung des Tubulusharns.

Bereits 3 Min. nach Wiederdurchblutung ist in allen reversibel geschädigten Hauptstückzellen die Mitochondrienstruktur wiederhergestellt (s. Abb. 8). Die wiedererlangte morphologische Integrität rechtfertigt die Annahme, daß nunmehr wieder Energie für die Reparation der Struktur und für Stoffwechselleistungen im Zusammenhang mit der speziellen Tubulusfunktion ausreichend zur Verfügung steht. Die Wiederherstellung der Mitochondrien bedeutet die Voraussetzung und den ersten Schritt aller Reparationsvorgänge. Die Eliminierung der in die Zelle während der Schädigungsphase eingetretenen Flüssigkeit schreitet bei den einzelnen Hauptstückzellen unterschiedlich schnell fort. Auch bei Zellen mit verzögerter Rückbildung der Einwässerung war stets zuerst die Mitochondrienstruktur wiederhergestellt.

Zu Beginn der Zellentwässerung konnten wir eine Neubildung vesikulärer und tubulärer Formationen des glatten endoplasmatischen Reticulums beobachten. kleine Vesiculæ mit glatten Membranen und elektronenoptisch leeren Lichtungen formierten sich zu langen Bläschenkettten, sich in ihrer

Verlaufsrichtung häufig basalen Zellwandeinfaltungen anlehnend. So entsteht der Eindruck, daß während der Reparationsphase neue basale Cytoplasmafächer gebildet werden, zumal die Bläschenketten streckenweise zu tubulären Systemen schon vereinigt waren. Weiterhin ist die große Zahl der jetzt reich gefüllten Cytolysosomen bemerkenswert. Auch sie weisen auf einen stattgehabten Strukturverlust, u.U. auf einen vorausgegangenen Zerfall von Cytomembraneinfaltungen hin.

Als das charakteristische Merkmal der Mfz. 3 Min., aber auch der späteren Reparationsphasen, zu den Manifestationszeiten von 1 Std. und 6 Std. finden wir eine starke Erweiterung des basalen Labyrinthes (s. Abb. 8). Sie war bereits in den lichtmikroskopischen Präparaten als längliche basale Vakuolen sichtbar. Weite, gegen die Basalmembran breit offene Cisternen durchziehen das Cytoplasma bis in die Höhe des Zellkernes und darüber hinaus. Sie stehen, soweit es sich um interzelluläre Räume handelt, nicht mit der Lichtung in Verbindung. Der Desmosomenapparat bleibt intakt. Die in den Cisternen enthaltene Flüssigkeit kann demnach nur aus dem Cytoplasma stammen. Dieses ist jetzt wieder dicht und strukturreich wie in der ungeschädigten Zelle. Zur Aufnahme der jetzt bereits extrazellulär gelegenen Flüssigkeit bedarf es nur noch eines ausreichenden onkotischen Druckgefälles (H. Wirz, H. Lapp), um die Flüssigkeitsretention im Zellbereich vollends zu beheben.

24 Std. nach Wiederdurchblutung haben sich die Erweiterungen des basalen Labyrinthes weiter verkleinert entsprechend der tubulometrisch erfaßten weiteren

Zellverkleinerung. Histologisch sind zu dieser Zeit die basalen Vakuolen nicht mehr sichtbar. Als Ausdruck der weiter fortgeschrittenen Reparation hat sich auch die Zahl der Cytolysosomen vermindert.

D. Schlußfolgerungen und Versuch
einer funktionellen Deutung

Die mit Hilfe unserer standardisierten In-vivo-Fixierungsmethode erzielten metrischen, histologischen und besonders elektronenmikroskopischen Ergebnisse gestatten exakte Aussagen über die wahren, durch supravitale oder postmortale Artefakte nicht verzerrten Zustände. Darüber hinaus vermitteln die in kurzen zeitlichen Abständen während der entscheidenden Phase der postischämischen Funktionsstörung erhobenen Befunde aneinandergereiht einen Einblick in den Ablauf der pathophysiologischen Vorgänge und eine Vorstellung von der Dynamik des morphologischen Geschehens.

Für das optimale Fixierungsergebnis spricht unzweifelhaft die Tatsache, daß unsere Meßwerte für das Lumen des ungeschädigten proximalen Tubulus höher liegen als alle bisher im Schrifttum angegebenen Werte und daß sie übereinstimmen mit den Meßwerten der Lebendbeobachtung durch das Auflichtmikroskop (K.Thurau u. P.Deetjen 1961, M.Steinhausen u. J.Iravani 1962, D.Walther 1963), obwohl doch der "Tubuskollaps" nach Kreislaufunterbrechung sofort einsetzt und innerhalb von 35 Sekunden (D.Walther) bzw. 10-20 Sekunden (C.E.Hanssen) beendet ist. Aus dem gleichen Grund können unsere ermittelten Werte für Epithelhöhe und Epithelfläche als die realen Bezugswerte beim Vergleich mit denen der verschiedenen Manifestationszeiten angesehen werden. Weiter bietet die praktisch ohne zeitliches Intervall zwischen Unterbrechung des Stoffwechsels und Arretierung der Struktur

erfolgte Fixierung die Gewißheit, im histologischen und vor allem im submikroskopischen Bereich die Strukturen in dem Zustand festgehalten zu haben, in dem sie sich während des Lebens befanden. Schließlich erlaubt die In-vivo-Fixierung eine Beurteilung der glomerulären und peritubulären Durchblutungsverhältnisse, die im konventionellen histologischen Bild nicht möglich ist und in den bisherigen, morphologisch induzierten Überlegungen zur postischämischen Funktionsstörung nicht oder nicht entsprechend einkalkuliert werden konnte.

D. Walther hat in Versuchen mit wiederholten kurzfristigen (je 2 Min.) Abklemmzeiten zeigen können, daß allein die Unterbrechung der Filtration den Tubuluskollaps bewirkt ohne das Erfordernis einer hypoxischen oder toxischen Epithelschädigung. Etwa 60 Sek. nach Freigabe der Filtration hatten die Tubuli ihre normale lichte Weite wiedererlangt, und nach Erholungspausen von jeweils nur 2 Min. konnte er das Experiment mit dem gleichen Effekt mehrmals wiederholen. Der fast augenblicklich einsetzende postmortale bzw. postischämische Tubuluskollaps beruht auf dem Einstrom von Tubulusflüssigkeit in das Tubulusepithel und läßt sich mit der physiologischen Rückresorption vergleichen. D. Walther bezeichnet dieses Phänomen als die supravitale Rückresorption.

Der anatomische Bau des Nephron als offenes, von einem Epithel ausgekleidetes Rohr mit einem Blutfilter als Zuflußorgan am einen Ende und einer weiten Öffnung zum Nierenbecken am anderen Ende läßt bei unvoreingenommener Betrachtung leicht die Tatsache außer Acht geraten, daß von

der einfließenden Flüssigkeitsmenge nur 1% am Rohrende ausfließt. 9/10 des Ultrafiltrates werden im proximalen Tubulus rückresorbiert. Das bedeutet, daß sich ständig ein vergleichsweise riesiger Flüssigkeitsstrom transzellulär quer zur Nephronachse bewegt und nur der geringe Rest von 1/10 in der Richtung des Tubulus weiterfließt. Dieser gewaltige Transport von praktisch blutisotoner Flüssigkeit aus dem Tubuluslumen in die peritubuläre Kapillare passiert die an den beiden polaren Flächen besonders konfigurierte und in ihrem Cytoplasma mit Organellen reich ausgestattete Tubuluszelle. Der Gesamtvorgang der Rückresorption läßt sich gedanklich in drei Teilvorgänge, der Transportweg in drei Teilstrecken zerlegen:

1) In einem ersten Schritt gelangt die Tubulusflüssigkeit durch die apicale Zellwand in die Tubuluszelle. Dieser Schritt geschieht passiv auf Grund eines minimalen, durch aktiven Na^+ -Export an der Zellbasis erzeugten Na -Konzentrationsgefälles zwischen Tubulusharn und Epithelcytoplasma. Die als Bürstensaum gestaltete Zelloberfläche sorgt für eine ausreichend große Kontaktfläche. Die Mikrovilli des Bürstensaumes sind ausgesprochen strukturarm, sie enthalten keine energiespendenden Mitochondrien.

2) In einem zweiten Schritt wird aktiv, d.h. unter O_2 -Verbrauch Na (und Wasser) aus der Zelle in den rückwärtigen Extrazellularraum befördert (A.Nolte 1964). Die Gestaltung der basalen Zelloberfläche mit ihren zahlreichen tiefen Einfaltungen gewährleistet einerseits einen innigen Kontakt einer großen Zahl von großen Mitochondrien mit der Zellmembran und andererseits eine große Abgabefläche.

3) Der dritte Schritt vom basalen Extrazellularraum durch das offene Endothel in die Kapillarlichtung spielt sich außerhalb des Einflußbereiches zellulärer Mechanismen ab. Auf dieser letzten Etappe folgt die isotone Flüssigkeit passiv dem Sog des durch die fast eiweißfreie glomeruläre Filtration in den peritubulären Kapillaren erzeugten kolloid-osmotischen Druck. Dabei muß lediglich der postglomeruläre Kapillardruck überwunden werden, der jedoch mit 17,4 mm Hg kaum über dem intratubulären hydrostatischen Druck von 15,5 mm Hg liegt (H.Wirz 1955).

Die Abklemmung des Nierenhilus wirkt sich auf den Rückresorptionsvorgang in dreierlei Hinsicht aus:

- a) In einem Filtrationsstop,
- b) in einem raschen Ausgleich des onkotischen Druckgefälles zwischen peritubulärer Kapillare und basalem Extrazellularraum und
- c) bei anhaltender Durchblutungssperre in einer hypoxischen Schädigung des Tubulusepithels.

Mit Unterbrechung der Filtration wird der vorhandene Tubulusharn bis zum Ausgleich der Osmolarität in die Tubuluszelle einströmen, und zwar innerhalb von Sekunden. Das Konzentrationsgefälle ist ausreichend für die Aufnahme fast des ganzen Tubulusinhaltes. Das Tubulusepithel ist allein auf Kosten der Tubuluslichtung vergrößert, und das nach dem "Tubuskollaps" verbleibende Restlumen ist minimal. Es entspricht der lichten Kanälchenweite, wie sie an postmortal fixierten Nieren gemessen wurde. Mit Hilfe der sehr geringen Energiereserven (W.Thorn, W.Thorn u. Mitarb.) vermag die Tubuluszelle nur noch einen kleinen Anteil der eingeströmten

Flüssigkeit in den Extrazellularraum zu schaffen, der gerade noch zur Absättigung des onkotischen Kapillardruckes ausreicht. Dann müssen alle Flüssigkeitsbewegungen zum Stillstand kommen. Dieses Stadium ist bereits nach einer Abklemmzeit von 2 Minuten erreicht (D.Walther). Von einer tubulären Insuffizienz kann dann noch nicht die Rede sein!

Hält aber die Durchblutungssperre länger an, in unseren Experimenten 20 Min., so reicht die aus dem geringen Kohlehydratgehalt freigesetzte Energie für die Struktur-erhaltung nicht aus (W.Thorn). Elektronenoptisch finden wir zur Mfz. 0 Min. geschädigte, funktionsuntüchtige Mitochondrien und in der Folgezeit vermehrt Cytolysosomen als Ausdruck eines partiellen Strukturzerfalles. Tubulometrisch ist die Tubuluslichtung jetzt völlig leer (Lumenfläche = 0!) und das Tubulusepithel über den errechneten Zuwachs hinaus geschwollen, der Außendurchmesser des Kanälchens ebenfalls vergrößert. Die jetzt maximal eingewässerten Tubulusepithelien haben nicht nur den Tubulusharn total aufgenommen, sondern auch noch Blutflüssigkeit aus der peritubulären Kapillare. Histologisch sehen wir jetzt in den kollabierten Kapillaren Erythrocyten in Geldrollenform und kaum Plasma, elektronenoptisch ein enges basales Labyrinth. Der Einstrom von Blutflüssigkeit setzt ein entsprechendes Konzentrationsgefälle voraus, der intrazelluläre osmotische Druck muß angestiegen sein. Das ist ohne weiteres verständlich angesichts der elektronenoptisch nachgewiesenen Katabiosen.

Zwischen dem Zustand nach einer kurzfristigen Ischämie von 2 Min. und demjenigen einer Ischämie von 20 Min. besteht demnach ein entscheidender Unterschied, obwohl

beide mit Tubuluskollaps und Epithelschwellung einhergehen. Ersterer stellte eine fixierte Funktionsphase der Rückresorption infolge Blockade des letzten Teilvorganges ohne zelluläre Insuffizienz dar. Letzterer aber ist das Ergebnis eines völligen Zusammenbruches der Rückresorption in allen drei Phasen mit ischämisch bedingter zellulärer Insuffizienz.

Nach einer Ischämie von 20 Min. sind die Zellschäden reparabel, die Funktionsstörungen reversibel. Unmittelbar nach Freigabe der Durchblutung entfalten sich in ganz kurzer Zeit die glomerulären und peritubulären Kapillaren, ohne daß schon gleich die Filtration einsetzt (Mfz. 0 Min.- 3 Min.). Das erste metrisch faßbare Ergebnis ist bei noch geschlossener Lichtung eine Verkleinerung der Tubulusgesamtfläche mit leichtem Rückgang der Epithelschwellung. Histologisch hat sich die Stase gelöst, Plasma wird zwischen den Erythrocyten sichtbar. Nun setzt die Sauerstoffzufuhr wieder ein, und bereits 3 Min. nach Lösung der Klemme sind alle Mitochondrien in ihrer Struktur wiederhergestellt. Damit steht wieder Energie für den aktiven Schritt im Resorptionsvorgang, nämlich für den Na^+ -Transport aus der Zelle in das basale Labyrinth zur Verfügung. Lichtmikroskopisch finden sich in diesem Stadium längliche Vakuolen an der Zellbasis, elektro-nenoptisch eine starke Erweiterung des basalen Labyrinthes. Die Entwässerung des Epithels und seine Abschwellung beginnt an der Zellbasis. Damit wird verständlich, daß, wie aus dem Schaubild (Abb. 11) hervorgeht, sich der Außendurchmesser vorübergehend unter den Normalwert verkleinert, obwohl das Epithel noch stark geschwollen und die Tubuluslichtung noch geschlossen sind. Die fortschreitende

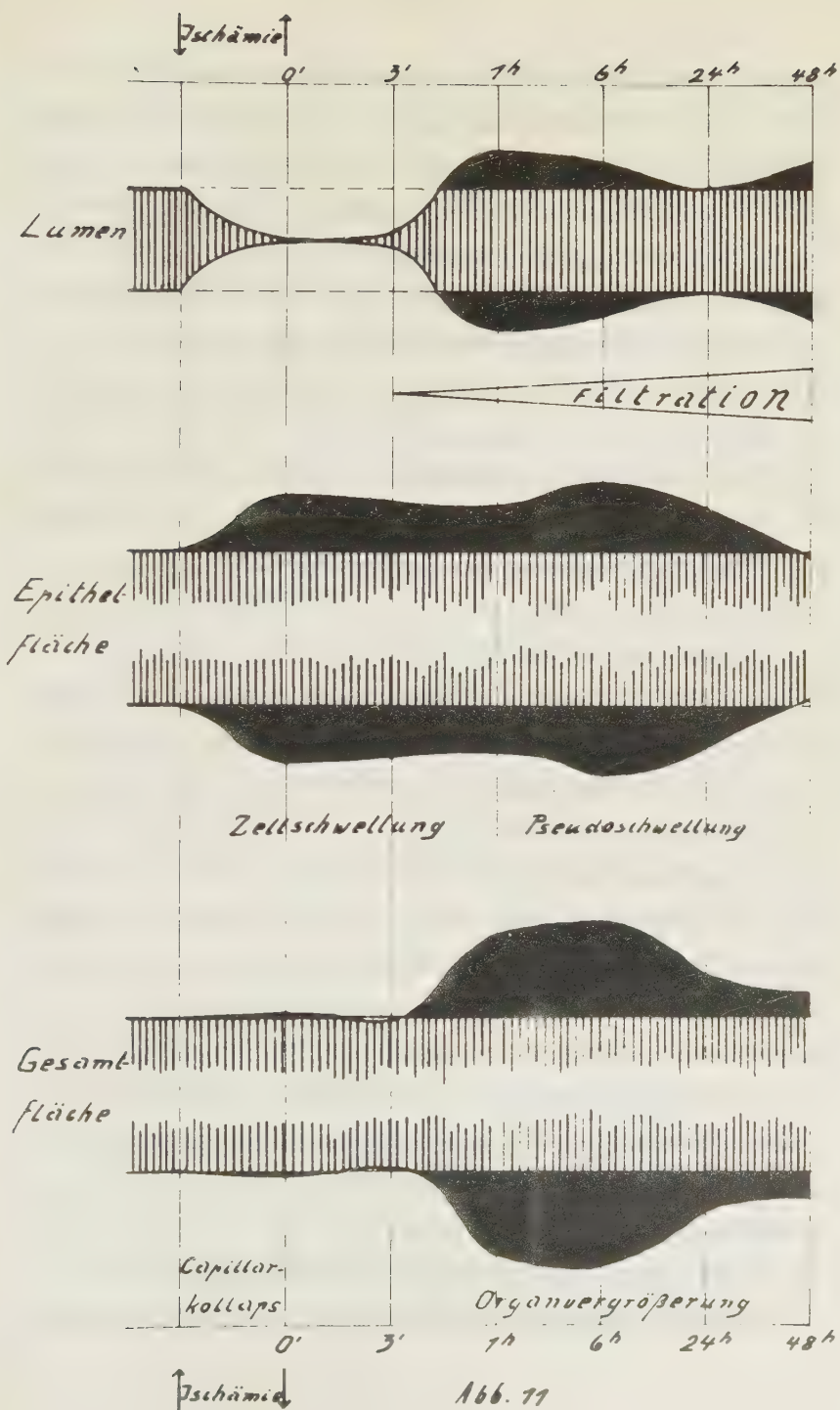


Abb. 71

Zellentwässerung bewirkt schließlich die allmähliche Öffnung der Tubuluslichtung und die Freigabe der Filtration. Das erste Ultrafiltrat ist jedoch infolge temporärer glomerulärer Permeabilitätsstörung eiweißreich. Das bedeutet eine neue Komplikation in den Restitutionsvorgängen, eine Erschwerung und Verzögerung des transzellulären Flüssigkeitstransportes. Besonders betroffen ist die dritte Etappe auf dem Resorptionsweg. Die glomeruläre Permeation von Plasma-proteinen verhindert einen ausreichenden Anstieg des kolloidosmotischen peritubulären Kapillardruckes und fordert von der Tubuluszelle eine zusätzliche aktive Stoffwechselleistung für die Eiweißaufnahme und die Eiweißverdauung. Elektronenoptisch sehen wir jetzt das Maximum an erweiterten basalen Extrazellularräumen und verlängerte intervillöse tubuläre Zellwandeinfaltungen sowie zahlreiche Eiweißtropfen und Eiweißlysosomen als Zeichen einer intensiven Eiweißresorption und Eiweißverdauung. Die 1 Std. nach Wiederdurchblutung einsetzende Organvergrößerung - und nur sie - läßt eine Erweiterung der Tubuli über den Normalwert zu, eine echte Tubulusektasie, mit entsprechender Vergrößerung des Außendurchmessers. Später tritt eine erneute Epithelflächenvergrößerung ein, wenn auch subjektiv das Epithel der erweiterten Kanälchen nicht geschwollen, sondern eher abgeflacht erscheint. Aus den planimetrischen (und aus den linearen) Meßwerten geht die signifikante Epithelflächenvergrößerung über den Sollwert eindeutig hervor. Wie unsere elektronenoptischen Bilder ausweisen, verbirgt sich hinter dieser zweiten, eigentlich paradoxen Epithelvergrößerung nicht eine erneute Zelleinwässerung, sondern eine gewaltige

Vergrößerung der in den Zellraum hineingeschobenen basalen Extrazellularräume. Das Epithelcytoplasma ist völlig entwässert, dicht und struktureich. Die mehrfach im Schrifttum behauptete alternierende Epithelschwellung und -abschwellung bei einmal in Gang gekommener Durchblutung (und O_2 -Versorgung) konnte bisher nicht befriedigend erklärt werden.

Innerhalb der beiden ersten Tage nach Wiederdurchblutung bildet sich die glomeruläre Permeabilitätsstörung zurück und nimmt der Eiweißgehalt des Ultrafiltrates ab. In gleichem Maße wird die Transportschwierigkeit auf der Endstrecke des Rückresorptionsweges beseitigt, und das erweiterte basale Labyrinth entleert sich. 24 Std. nach Wiederdurchblutung haben wir nur in einem Teil der Tubulusepithelien noch verkleinerte Labyrinthräume nachweisen können. Gegen Ende unseres Versuches nähert sich der Epithelflächenwert dem Normalwert, bei einzelnen stark erweiterten Kanälchen besteht sogar eine echte Epithelabflachung. Der mittlere Außendurchmesser verkleinert sich nur zögernd und liegt bei 48 Std. Manifeststionszeit noch über dem Ausgangswert. Daraus resultiert eine echte Tubuluserweiterung bei reell verkleinerter Epithelmasse, und bei einer Vergrößerung des Gesamtorgans, auf die Rinde bezogen um 100%. Das heißt, die Volumenzunahme der Niere beruht in dem fortgeschrittenen Stadium der Wiederherstellung allein auf einem größerem Gehalt an Tubulusharn. Erst mit völligem Abklingen der Polyurie bildet sich die Nephrohydrose zurück. Die ausgeglichene Bilanz zwischen der nach Art eines Rückkopplungsmechanismus von der Rückresorptionsleistung einregulierten Filtratmenge (W.Rotter, H.Lapp,

H.Zimmermann 1962) einerseits und der Rückresorptionsrate andererseits bietet dann die Voraussetzung für eine adäquate Beschickung des medullären Gegenstromsystems und für die Wiederherstellung der Konzentrierungsleistung.

III. Zusammenfassung

Die in vielen experimentellen Arbeiten zur **formalen** und kausalen Genese der Nephrohydrose erhobenen Befunde sind durch neue Ergebnisse der Lebendbeobachtung **fragwürdig** geworden. Der lebende, funktionstüchtige proximale Nierentubulus hat, im Auflichtmikroskop betrachtet, eine **weit** offene Lichtung; der in üblicher Weise in vitro fixierte Tubulus ist dagegen eng, weil supravital Tubulusharn in das Epithel einströmt. Die zu den verschiedenen Zeiten **während** der postischämischen Erholungsphase bisher gefundenen histologischen Bilder und ermittelten Meßwerte wurden zu falschen Normalbildern und falschen Meßwerten in Beziehung gesetzt.

Aus diesen Gründen haben wir eine Methode der In-vivo-Fixierung der Rattenniere ausgearbeitet und den proximalen Tubulus bei der ungeschädigten Niere sowie bei Nieren 0 und 3 Min. sowie 1, 6, 24 und 48 Std. nach Abklemmung des Nierenstieles für 20 Min. histologisch, tubulometrisch und elektronenmikroskopisch untersucht.

Der sog. supravitale Tubuskollaps erfolgt innerhalb von Sekunden nach Unterbrechung des Nierenkreislaufes bzw. nach Entnahme des Gewebsblockes. Die von uns gewonnenen Werte für das Tubuluslumen liegen um ein Mehrfaches höher als die alten Werte und stimmen mit den Werten der Lebendbeobachtung überein. Daraus geht hervor, daß wir mit unserer Fixierungstechnik die wahren, während des Lebens herrschenden Zustände erfaßt haben.

Unsere Versuche hatten folgende **Ergebnisse**:

1) Nach Unterbrechung der Nierendurchblutung für 20 Min. kommt in den ersten Stunden die Harnausscheidung zögernd in Gang. In den beiden ersten Versuchstagen finden wir eine Polyurie mit Verlust der Konzentrationsfähigkeit und eine Proteinurie. In den folgenden 8 - 10 Tagen erreichen allmählich unter Ansteigen des spezifischen Harngewichtes die Harntagesmengen wieder den Normalwert. Bei der relativ kurzfristigen Ischämie treten Epithelnekrosen nur ganz vereinzelt auf.

2) Das morphologische Bild des normalen proximalen Tubulus unterscheidet sich grundlegend von den konventionellen Bildern. Der proximale Tubulus hat eine weite Lichtung, die Höhe des kubischen Epithels ist etwa gleich dem halben Kanälcheninnendurchmesser. Dieser beträgt an der fixierten, in Paraffin eingebetteten Niere im Mittel 17,3  . Eine lichtmikroskopisch sichtbare kleine Bläschenreihe unter dem Bürstensaum ist regelmäßig am funktionstüchtigen Epithel nachzuweisen. Sie fehlt bei tubulärer Insuffizienz.

3) Elektronenmikroskopisch hat das normale Tubulusepithel ein im Vergleich zu früheren, nach Fixierung in vitro gewonnenen Bildern dichteres, strukturreiches Grundplasma und ein stets enges basales Labyrinth.

4) Am Ende der temporären Ischämie besteht eine diffuse Zellschwellung, die über die Einwässerung des supravitalen Tubuluskollapses hinausgeht. Die Mitochondrien zeigen eine hypoxiebedingte Cristaeschwellung. Vermehrte Cytolysosomen sind Ausdruck eines Zerfalles cytoplasmatischer Strukturen. Dieser Katabolismus ist die Ursache dafür,

daß außer dem ganzen Tubulusinhalt auch Plasma der peritubulären Kapillare passiv in die energetisch insuffiziente Tubuluszelle einströmt.

5) Nach Freigabe der Nierendurchblutung beginnt vor Einsetzen der Filtration die Zellentwässerung an der Zellbasis. Ihre Voraussetzung ist die elektronenoptisch nachweisbare Integrität der Mitochondrien, ihr morphologisches Substrat die Erweiterung des basalen Labyrinthes. Der aktive Na-Export an der Zellbasis ist wieder in Gang gekommen.

6) Die zelluläre Restitution geht einher mit der Neubildung von Membransystemen des glatten endoplasmatischen Reticulums und basaler Zellwandeinfaltungen.

7) Mit dem successiven Abschwellen des Tubulusepithels öffnet sich allmählich das Tubuluslumen, und eine zunächst noch eingeschränkte Filtration wird freigegeben. Die in der ersten postischämischen Phase beobachtete Proteinurie beruht allein auf einer glomerulären Permeabilitätsstörung. Die intervillösen tubulären Zellwandeinfaltungen sind der Ort der physiologischen Eiweißrückresorption. Diese strukturelle Einrichtung ist in der ersten postischämischen Phase hypertrophiert.

8) Das postischämische diffuse Zellödem schwindet kontinuierlich und ist in verschiedenen Zellen unterschiedlich schnell etwa 1 - 6 Stunden nach Wiederdurchblutung vollständig abgeklungen. Die danach dennoch metrisch nachweisbare Epithelflächenvergrößerung beruht auf einer enormen Erweiterung der in die Zelle hineingeschobenen basalen Extrazellularräume.

9) Die Verkleinerung des basalen Labyrinthes

, und das Schwinden der metrisch faßbaren Scheinschwellung des Epithels) hat ein ausreichendes kolloidosmotisches Druckgefälle zwischen peritubulärer Kapillare und basalem Extrazellularraum zur Voraussetzung, das erst nach Beseitigung der glomerulären Permeabilitätsstörung errichtet werden kann.

10) Die postischämische Nierenfunktionsstörung hat eine komplexe formale Pathogenese. Die (in unseren Experimenten ischämisch erzeugte) zelluläre energetische Insuffizienz ist ihr wesentlicher kausaler Faktor. Glomeruläre Permeabilitätsstörung und die Relation zwischen Filtrationsrate und Rückresorptionsleistung, beide nach Art eines Rückkopplungsmechanismus von einander abhängig, bestimmen den Grad der Funktionsstörung und die Dauer der Restitution.

IV. Schrifttum

- Bohle, A., Ch.Herfarth, H.Krecke : Beitrag zur Morphologie der Niere beim akuten Nierenversagen. Klin. Wschr. 38, 152 - 164 (1960)
- Bohle, A., J.Jahnecke : Vergleichende histometrische Untersuchungen an bioptisch und autoptisch gewonnenem Nierengewebe mit normaler Funktion und bei akutem Nierenversagen. Klin. Wschr. 42, 1 - 11 (1964)
- Cain, H., St.Fazekas : Studien über die Folgen einer vorübergehenden experimentellen Nierenischämie. I. Die morphologischen Veränderungen des akuten Schadens und ihre funktionelle Deutung. Virchows Arch. path. Anat. 336, 389 - 416 (1963). II. Die Restitutionsvorgänge an den Tubuli. Virchows Arch. path. Anat. 337, 33 - 53 (1963)
- Cain, H., St.Fazekas, W.Ross : III. Karyometrie und Häufigkeitsanalyse des "bunten Kernmusters" während der Regeneration. Virchows Arch. path. Anat. 337, 53-64 (1963)
- Gerson, A. : Experimentelle metrische Untersuchungen an Rattennieren in der postischämischen Erholungsphase. Inaug.- Diss., Frankfurt/Main 1964
- Hanssen, C.E. : Early post mortem Renal Changes Studied in Mice with one Kidney exteriorized. Acta path. microbiol. Scand. 40, 280 - 320 (1960)
- Jahnecke, J., B.Kommerell, A.Bohle : Beitrag zur Struktur des Nephron. Vergleichende Untersuchungen an autoptisch und bioptisch gewonnenem Nierengewebe. Klin. Wschr. 40, 227 - 231 (1962)

- Lapp,H. : Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die postischämische, akute Nephrose. Vortrag in der Med. Ges., Gießen, 23.2.1960
- Vergleichende elektronenmikroskopische Untersuchungen am funktionstüchtigen und funktionsgehemmten proximalen Tubulusepithel. Vortrag a.d.3.Symposium der Ges.f. Nephrologie in Berlin vom 11. - 13. Sept. 1964
- Maunsbach,A.B., S.C.Madden, H.Latta : Variations in Fine Structure of Renal Tubular Epithelium under Different Conditions of Fixation. J.Ultrastruct.Res.6, 511 - 530 (1962)
- Miller,F. : Hemoglobin absorption by the cells of the proximal convoluted tubule in mouse kidney. J. biophys. biochem. Cytol. 8, 689 - 718 (1960)
- Mölbert,E., D.Guerriore : Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Leberparenchym bei akuter Hypoxie. Beitr. path. Anat. 117, 32 -49 (1957)
- Müller,G. : Funktionelle, histologische und karyometrische Untersuchungen an der Rattenniere nach akuter temporärer Ischämie. Inaug. - Diss., Frankfurt/Main 1964
- Molte,A. : Elektronenmikroskopischer Nachweis und die Lokalisation von Na- und Cl-Ionen im proximalen Tubulusepithel der Rattenniere. Vortrag a.d.3.Symposium d.Ges. f. Nephrologie in Berlin vom 11.-13. Sept. 1964
- Ober,K.F. : Planimetrische Untersuchungen zur Frage der Nephrohydrose bei akuter postischämischer Nephrose der Ratte. Inaug. - Diss., Frankfurt/Main 1964
- Opitz,E., W.Rotter, W.Hielscher: Über die "Wiederbelebungszeit" der Rattenniere. Verh.dtsch.Ges.Path.37, 336-342 (1953)

- Parker, M.V., H.G. Swann, J.G. Sinclair : The functional morphology of the kidney. Tex. Rep. Biol. Med. 20, 425 - 445 (1962)
- Randerath, E., A. Bohle : Morphologische Grundlagen akuter, extrarenal bedingter Nierenfunktionsstörungen. Verh. dtsh. Ges. inn. Med. 65, 250 - 269 (1959)
- Rhodin, J. : Anatomy of Kidney Tubules. Internat. Rev. Cytol. 7, 485 - 534 (1958)
- Elektron Mikroskopy of the Kidney. Symposium of renal physiolog. Am. J. Med. 24, 661 - 675 (1958)
- An Atlas of Ultrastructure. W.B. Saunders Company, Philadelphia and London 1963
- Rotter, W. : Über die postischämische Insuffizienz überlebender Zellen und Organe, ihre Erholungszeit und die Wiederbelebungszeit nach Kreislaufunterbrechung. Thoraxchirurg. 6, 107 - 124 (1958)
- Pathologie der Schockniere. Vortrag d. 3. Dtsch. Elektrolyt - Symposiums vom 18.- 21. Feb. 1959 in Kassel
- Rotter, W., H. Lapp, H. Zimmermann : Pathogenese und morphologisches Substrat des "akuten Nierenversagens" und seine Erholungszeit. Dtsch. Med. Wschr. 87, 669 - 677 (1962)
- Schubert, G.E., Z. Zarday : Beitrag zur Morphologie der Niere nach temporärer Unterbindung der Nierenarterie. Z. ges. exp. Med. 135, 583 - 608 (1962)
- Steinhausen, M., J. Iravani : Das Tubuluslumen der Ratte in vivo bei verschiedenen Diuresezuständen und post mortem. Free Communication No. 275, XXII. Int. Congress of Physiol. Sciences, Leiden (1962)

Swann, H.G. : The functional distension of the kidney.

Tex. Rep. Biol. Med. 18, 565 - 595 (1960)

Thoenes, W. : Die Mikromorphologie des Nephron in ihrer

Beziehung zur Funktion. Klin. Wschr. 39, 504 - 518,
827 - 839 (1961)

— Mikromorphologie des Nephron nach temporärer Ischämie.

5th Internat. Congress for Electron Microscopy.

Path. Biol. 10, 23 - 40 (1962)

Thorn, W. : Die Dynamik des Zellgeschehens und Ursachen für

den Gewebsuntergang im Sauerstoffmangel. Hochmolekulare
Strukturen, Energiefreisetzung und Funktion der Zelle.
Dtsch. med. Wschr. 85, 74 - 78 (1960)

Thorn, W., G. Jakobs, H. Lapp, P. v. Wichert : Metabolische und

histologische Veränderungen in Nieren nach 2 oder 3
Stunden Ischämie und Wiederdurchblutungszeiten bis zu
20 Tagen. Pflügers Arch. ges. Physiol. 276, 1-10 (1962)

Thurau, K., P. Deetjen : Kinematographische Untersuchungen

am Warmblüternephron. Nachr. d. Akad. d. Wissenschaften
i. Göttingen, No. 2 (1961)

Walther, D. : Ein Beitrag zur Insuffizienz der proximalen

Nierentubuli und zur Deutung der Nephrohydropse.

Münch. Med. Wschr. 105, 1370 - 1375 (1963)

— Das Substrat der Anurie und Polyurie beim akuten

Nierenversagen der Ratte. Vortrag a.d. 3. Symposium d.

Ges. f. Nephrologie i. Berlin vom 11.-13. Sept. 1964

Watz, Ch. : Experimentelle Untersuchungen über morphologische

und funktionelle Veränderungen der Niere nach temporä-
rer Ischämie. Inaug. - Diss., Gießen 1957

- Wirz, H. : Druckmessung in Kapillaren und Tubuli der Niere
durch Mikropunktion. Helv. Physiol. Acta 13, 42-49 (1955)
- Zimmermann, H. : Experimentelle histologische, histoche-
mische und funktionelle Untersuchungen zur Frage der
Nierenschädigung nach temporärer Ischämie. Beitr.
path. Anat. 117, 65 - 84 (1957)
- Über die Erholungszeit der postischämischen Schwellung,
Atrophie und Dilatation der Nierenhauptstücke.
Verh. dtsch. Ges. Path. 66, 299 - 305 (1960)
- Zimmermann, H., A. Gerson, G. Ehlers : Metrische Untersuchungen
an Nieren in der Erholungsphase nach temporärer
Ischämie. Frankf. Zschr. Path. 73, 338 - 345 (1964)
- Zollinger, H. U. : Anurie bei Chromoproteinurie.
Thieme - Verlag, Stuttgart 1952

Herzlichen Dank schulde ich Herrn Prof.Dr.med.H.Lapp für das lebhafte Interesse, das er meiner Doktorarbeit entgegenbrachte sowie für die Unterstützung und die vielfachen Ratschläge, mit denen er die Arbeit wesentlich förderte.

Lebenslauf

Am 4. Juni 1939 wurde ich als Tochter des Bankrats Werner Linke und seiner Ehefrau Elfriede, geb. Bigalk, in Berlin geboren.

In den Jahren 1945 - 1951 besuchte ich die Grundschule in Berlin - Lichterfelde und von 1951 - 1958 die Fichtenberg - Schule, Oberschule wissenschaftlichen Zweiges, in Berlin - Steglitz. Im Mai 1958 begann ich an der Johann Wolfgang Goethe - Universität in Frankfurt am Main mit dem Studium der Medizin. Nach fünf vorklinischen und sechs klinischen Semestern bestand ich im Februar 1964 an der gleichen Universität das Staatsexamen mit dem Prädikat "gut".

Seit Mai 1964 bin ich am Senckenbergischen Pathologischen Institut (Direktor: Prof. Dr. med. W. Rotter) der Universität Frankfurt am Main als Medizinalassistentin tätig.

Bad Homburg, d.28. Januar 1965

Annemarie Linke

Verzeichnis meiner akademischen Lehrer:

Prof.Dr.med.W.Amelung	Naturheilkunde
Prof.Dr.med.W.Artelt	Geschichte der Medizin
Priv.Doiz.Dr.med.H.K.Brehm	Frauenheilkunde
Priv.Doiz.Dr.med.P.Christ	Innere Medizin
Prof.Dr.phil.M.Czerny	Experimentalphysik
Prof.Dr.med.G.Frey	Innere Medizin
Prof.Dr.med.H.Frick	Anatomie
Prof.Dr.med.R.Geißendörfer	Chirurgie
Prof.Dr.phil.H.Giersberg	Zoologie
Prof.Dr.med.O.Grüner	Gerichtliche Medizin
Prof.Dr.med.E.Güntz	Orthopädie
Prof.Dr.rer.nat.W.Halbsguth	Botanik
Prof.Dr.med.R.Heintz	Innere Medizin
Prof.Dr.med.E.Heinz	Physiologische Chemie
Prof.Dr.med.L.Heller	Frauenheilkunde
Prof.Dr.med.F.Herrmann	Dermatologie
Prof.Dr.med.K.Herzberg	Hygiene
Prof.Dr.med.F.Hoff	Innere Medizin
Prof.Dr.med.P.Holtz	Pharmakologie
Prof.Dr.med.O.Käser	Frauenheilkunde
Prof.Dr.med.G.Kahlau	Pathologie
Prof.Dr.med.E.Landes	Dermatologie
Prof.Dr.med.H.Lapp	Pathologie
Priv.Doiz.Dr.med.W.A.Lieb	Augenheilkunde
Prof.Dr.med.H.Martin	Innere Medizin
Prof.Dr.med.R.Mittermeier	HNO - Heilkunde

Priv.Doiz.Dr.med.J.E.Otto
Prof.Dr.med.W.Rotter
Prof.Dr.phil.nat.P.Royen
Prof.Dr.med.B.de Rudder
Prof.Dr.med.W.Schrade
Prof.Dr.med.D.Starck
Prof.Dr.med.F.Strnad
Prof.Dr.med.R.Thiel
Prof.Dr.med.E.Ungeheuer
Priv.Doiz.Dr.med.W.Weber
Prof.Dr.med.K.Weiß
Prof.Dr.med.K.Weizler
Prof.Dr.med.H.Zimmermann
Prof.Dr.med.J.Zutt

Augenheilkunde
Pathologie
Anorganische Chemie
Kinderheilkunde
Innere Medizin
Anatomie
Röntgenologie
Augenheilkunde
Chirurgie
Chirurgie
Kinderheilkunde
Physiologie
Pathologie
Neurologie und
Psychiatrie

Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die der Medizinischen Fakultät Frankfurt/Main zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel:

" Histologische, tubulometrische und elektronenmikroskopische Untersuchungen am v i t a l fixierten normalen und ischämisch geschädigten proximalen Tubulus der Rattenniere "

in der Elektronenmikroskopischen Abteilung (Leiter: Prof. Dr.med.H.Lapp) des Senckenbergischen Pathologischen Institutes (Direktor: Prof.Dr.med.W.Rotter) der Universität Frankfurt/Main unter Leitung von Prof. Dr. H. Lapp ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen Medizinischen Fakultät ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Bad Homburg, den 28. Januar 1965

Annemarie André

